DENIS MEDINA GUEDES
LEONARDO FRANÇA DA SILVA
VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA
(ORGANIZADORES)

# AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN CIENCIAS AGRÍCOLAS 4

Atena Editora
Ano 2024

DENIS MEDINA GUEDES
LEONARDO FRANÇA DA SILVA
VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA
(ORGANIZADORES)
AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN
CIENCIAS AGRÍCOLAS 4
Atena
Editora
Ano 2024

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Avances científicos y tecnológicos en ciencias agrícolas 4

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo
**Correção:** Andria Norman
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga
**Revisão:** Os autores
**Organizadores:** Denis Medina Guedes
Leonardo França da Silva
Víctor Crespo de Oliveira

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

A946 Avances científicos y tecnológicos en ciencias agrícolas 4 / Organizadores Denis Medina Guedes, Leonardo França da Silva, Víctor Crespo de Oliveira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2024.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-2261-7
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.617240202

1. Ciencias agrícolas. I. Guedes, Denis Medina (Organizador). II. Silva, Leonardo França da (Organizador). III. Oliveira, Víctor Crespo de (Organizador). IV. Título.

CDD 630

**Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166**

**Atena Editora**
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

La recopilación “Avances Científicos y Tecnológicos en Ciencias Agrícolas 4” destaca por su enfoque científico, abarcando en sus capítulos una amplia gama de estudios. Este volumen proporciona una perspectiva integral e interdisciplinaria de las ciencias agrícolas, presentando artículos de investigación, estudios de casos y revisiones de la literatura.

El objetivo primordial de este trabajo es atender las demandas transdisciplinarias de las Ciencias Agrícolas, promoviendo la construcción integrada y accesible del conocimiento. Buscamos reunir estudios de diversas Instituciones de Enseñanza, Investigación y Extensión, tanto en Brasil como en el exterior, clasificándolos de forma clara y organizada.

Los contenidos fueron elaborados por expertos de diferentes áreas, abarcando temas como Microbiología, Fruticultura, Edafología, Fitopatología, Entomología, Ingeniería Agrícola, Zootecnia, Medicina Veterinaria y disciplinas afines. La diversidad de temas tratados tiene como objetivo enriquecer el conocimiento de estudiantes, académicos y todos aquellos interesados en las Ciencias Agrícolas.

Expresamos nuestro profundo agradecimiento a todos los autores de Instituciones de Educación, Investigación y Extensión, tanto de Brasil como del exterior, por compartir sus estudios y hacer posible la creación de este libro virtual. Esperamos que este trabajo promueva la intercomunicación entre diferentes áreas de las Ciencias Agrícolas, contribuyendo al avance de la ciencia y la investigación y atendiendo las diversas demandas de conocimiento.

Reconocemos la importancia de la divulgación científica y destacamos a Atena Editora como una plataforma sólida y confiable para que los investigadores presenten y difundan efectivamente sus resultados. Estamos comprometidos a impulsar el progreso en las Ciencias Agrícolas a través de esta colección y los valiosos aportes de sus autores.

¡Esperamos que tengas una excelente lectura!

Denis Medina Guedes
Leonardo França da Silva
Víctor Crespo de Oliveira

SUMÁRIO

SUMÁRIO

# CAPÍTULO 1

# ABORDAGEM SISTÊMICA DO TERMO BIOINSUMOS NA ATUALIDADE

*Data de aceite: 01/02/2024*

**André Vinícius Freire Baleeiro**

**Fabiana Almagro de Lima Ribeiro**

**Eliana Paula Fernandes Brasil**

**Joyce Vicente do Nascimento**

**Thalles Alves Tormim da Veiga**

**RESUMO**: A sustentabilidade agrícola tem sido um tema de grande preocupação mundial, que ganha cada vez mais importância à medida que as discussões sobre esse assunto ganham destaque nos mais diferentes fóruns ao redor do mundo. É indiscutível que entre as estratégias de manejo agrícola disponíveis, o uso de bioinsumos (insumos de origem biológica) está entre as mais sustentáveis. Neste contexto, a proposta é apresentar um referencial teórico atualizado que aborde aspectos históricos, legislação e classificação de bioinsumos, demonstrando que o maior avanço está no desenvolvimento de bioinsumos para sanidade vegetal, fertilidade do solo, nutrição de plantas, estresses abióticos e manejo de espécies.
**PALAVRAS-CHAVE**: sustentabilidade, bioeconomia, biodiversidade, fertilizantes naturais

**ABSTRACT**: Agricultural sustainability has been a topic of great concern worldwide, which is gaining more and more importance as discussions on this subject gain prominence in different forums around the world. It is indisputable that among the agricultural management strategies available, the use of bioinputs (inputs of biological origin) is among the most sustainable. In this context, the proposal is to present an updated theoretical framework that addresses historical aspects, legislation and classification of bio-inputs, demonstrating that the greatest advance is in the development of bio-inputs for plant health, soil fertility, plant nutrition, abiotic stresses and species management.
**KEYWORDS**: sustainability, bioeconomy, biodiversity, natural fertilizers

## 1 I INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma biodiversidade imensurável, todo esse potencial precisa ser conhecido, conservado e aplicado de forma estratégica e a seu favor. Transformar a biodiversidade em ativos biológicos tais

como insumos para a produção agrícola brasileira é parte integrante do Programa Nacional de Bioinsumos. Com o lançamento do Programa Nacional de Bioinsumos, realizado em maio de 2020, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, instituído pelo Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020, o termo bioinsumo ganhou espaço na mídia, nas academias, nos ambientes de pesquisa, de extensão rural e de produção.

A definição de bioinsumo ainda é complexa, para o Programa Nacional de Bioinsumos, conforme Decreto nº 10.375, "bioinsumo é todo produto, processo ou tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, destinado ao uso na produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agropecuários, nos sistemas de produção aquáticos ou de florestas plantadas, que interfiram positivamente no crescimento, no desenvolvimento e no mecanismo de resposta de animais, de plantas, de microrganismos e de substâncias derivadas e que interajam com os produtos e os processos físico-químicos e biológicos".

A necessidade de ações coordenadas para ofertar insumos amigáveis ao meio ambiente e à saúde animal e humana é uma demanda histórica de várias abordagens de agricultura sustentável, que tem crescido fortemente nos últimos anos no mundo e, em especial, no Brasil, que a agricultura sempre teve papel de destaque como agente econômico de desenvolvimento. Estas têm em comum, por exemplo, segundo Oberc; Schnell (2020), uma perspectiva ampla e compartilhada dos problemas e, normalmente, um conjunto de soluções amigáveis que as sustentam e que são comuns a todas, e por via de regra, inclui a redução de pesticidas sintéticos e uso de fertilizantes minerais, a rotação de culturas; a inclusão de culturas de cobertura e companheiras, cultivo mínimo ou plantio direto, dentre outras.

Os bioinsumos representam o novo, o moderno, instrumentalizam a bioeconomia (Mazzaro et al., 2022). Da mesma forma, o tema dialoga com a sustentabilidade (Altieri, 1989) em seu mais alto grau, nas políticas públicas e programas nacionais e internacionais. Os bioinsumos são a primeira fase da indústria da bioeconomia do Brasil, cuja lógica da sustentabilidade evolui a partir destes bioativos, suas indústrias de transformação, sejam farmacêuticas, agrícolas, cosméticas etc, para então fornecer a base para uma transição de matriz energética, que contemple um novo processo para o país (VIDAL E DIAS, 2023).

## 2 | REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 HISTÓRICO DOS BIOINSUMOS

O prefixo "bio" provém de vida. Insumo, de sua raiz latina *insumere* pode ser traduzido como "fazer uso de". Como no início da agricultura só se fazia uso de insumos de origem biológica é difícil datar o início do uso dos bioinsumos senão pela própria origem da agricultura (MAZOYER, ROUDART, 2010). A reutilização da biomassa produzida nos agroecossistemas para aumentar a fertilidade do solo é provavelmente um dos primeiros

usos dos bioinsumos. No início da agricultura só não havia a ideia de bioinsumos enquanto produtos, como descrito em lei (BRASIL, 2020), por se tratar de um modo de produção diferente do atual.

Como os processos de domesticação animal e início da agricultura se desenvolveram conjuntamente nos oito centros de origem da agrobiodiversidade (TOLEDO e BARRERA-BASSOLS, 2015), e com os vários usos dos animais como fonte de alimento ou tração animal, houve uma grande disponibilidade do insumo proveniente do metabolismo animal. Mais especificamente o esterco animal, após passar por um processo, sistemático ou não de decomposição, há tempos é utilizado para o plantio.

O esterco curtido e o composto orgânico, são bioinsumos de antiquíssima existência. Descobertas pedológicas mostram que a "terra preta de índio", que compõe um tipo de antropossolo, é decorrência das atividades dos assentamentos humanos de povos indígenas da floresta amazônica (LINS, 2015). O que não se sabe ao certo é qual o nível de intencionalidade com que eram criadas as terras pretas, enquanto bioinsumos para aprimorar os cultivos, ou enquanto impacto positivo decorrente de um modo de vida regenerativo.

Com relação ao uso de princípios ativos para a saúde vegetal também é difícil determinar seu início. Há 2400 anos Hipócrates falava para "que seu remédio seja seu alimento, e que seu alimento seja seu remédio". Com essa visão ele explicita o reconhecimento da importância que os gregos davam à potencialidade das plantas. Nesse sentido, Ana Primavesi (2016) afirma que "solo sadio, planta sadia, ser humano sadio", que decorre de uma visão integrada entre saúde ambiental e saúde humana.

Essa visão mais integrada é presente no conhecimento popular, e o uso de caldas com ingredientes biológicos também é difícil de ser datado. O exemplo do óleo de nim é ilustrativo, visto que o uso desta planta na medicina Ayurveda esteja mencionada em escritos sânscritos de milhares de anos de idade. Apesar do Nim (*Azadirachta indica*) ser utilizado há muito pelo conhecimento popular, sua habilidade em repelir insetos foi pela primeira vez descrita na literatura científica entre 1928 e 1929. Dois cientistas Indianos, Dr. R.N. Chopra e Dr.M.A. Husain usaram uma solução aquosa contendo 0,001% de frutos secos moídos para repelir gafanhotos do deserto (GARCIA, 2000).

Em diversos tipos de agricultura alternativa há a presença de bioinsumos, como as caldas de alho, pimenta, cebola, leite, melado na agricultura orgânica, os preparados biodinâmicos na agricultura biodinâmica, os microrganismos eficientes da agricultura natural. Hoje os bioinsumos estão saindo do nicho das agriculturas alternativas e estão sendo adotados em culturas de larga escala, como soja (MEYER, 2022) e cana-de-açúcar (BUTU et al. 2020).

Entre os anos 20 e 40 do século XX diversas tentativas foram realizadas, sem sucesso, de importação e liberação de agentes de biocontrole de pragas no Brasil (Parra, 2014; Bueno et al., 2020). Em 1967 ocorreu o primeiro projeto bem-sucedido de importação

do parasitoide *Neodusmetia sangwani* para controlar a cochonilha das pastagens (*Antonina graminis*).

Com relação a microrganismos como agentes de biocontrole, o *Metarhizium anisopliae* foi o primeiro fungo usado para controle de pragas no Brasil. Já para controlar doenças de plantas, o primeiro estudo publicado utilizando antagonistas foi com *Trichoderma em* 1950 (MEYER, 2020).

## 2.2 LEGISLAÇÃO DOS BIOINSUMOS

Os bioinsumos, bioprodutos, biotecnologia, nomenclatura utilizada para expressar a nova expansão em tecnologia sustentável utilizada na área agrícola brasileira e mundial receberá proteção jurídica através da implantação do Projeto de Lei nº 3668 de 2021,o qual regulariza, traz em lei a especificação de uma legislação própria que fundamenta a utilização, implantação e desenvolvimento de bens e serviços, podendo estes ser, desde o seu processamento até a produção de outros bens e serviços provenientes de organismos vivos em sistemas de produção animal e vegetal.

Segundo o Projeto de Lei nº 3668 de 2021:

> Art. 1º Esta Lei dispõe sobre a produção, o registro, comercialização, uso, destino final dos resíduos e embalagens, o registro, inspeção e fiscalização, a pesquisa e experimentação, e os incentivos à produção de bioinsumos para agricultura, inclusive sobre a produção em estabelecimentos rurais com objetivo de uso exclusivo na propriedade. § 1º As normas gerais contidas nesta Lei são de interesse nacional e devem ser observadas pela União, pelos Estados, pelo Distrito Federal e pelos Municípios. § 2º As disposições desta Lei aplicam-se a todos os sistemas de cultivo, incluindo o convencional e o orgânico. § 3º São considerados bioinsumos, para os fins desta Lei, as substâncias e produtos empregados como bioestimuladores, biorreguladores, semioquímicos, bioquímicos, agentes biológicos de controle, agentes microbiológicos de controle, fertilizantes orgânicos, bioestabilizantes, biofertilizantes e inoculantes, conforme definidos no art. 2º desta Lei.

Segundo Vidal (2023), os bioinsumos tem em sua base o uso da matriz biológica existente na natureza, como as substâncias bioativas e a diversidade vegetal, animal e microbiana acima e abaixo da superfície do solo.

A iniciativa para a regularização dos Bioinsumos vem de desdobramentos da Lei de Produtos Orgânicos (Lei nº10.831 de 2003), do Programa Nacional de Bioinsumos (Decreto Lei nº 10.375 de 2020) e da pauta amplamente discutida pelas Convenções Mundiais, preocupadas com o Meio Ambiente, os quais primam pelo desenvolvimento sustentável, pela conservação e preservação da natureza.

A referida aprovação do Projeto de Lei dos Bioinsumos justamente vem dar efetividade e conformidade a parceria firmada com a ONU (Organização das Nações Unidas) em buscar, através de ações de trabalho, o fomento a, por exemplo, cumprimento das metas estabelecidas pelo Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS metas

2,3,6,7,12,13,14 e 15).

Os Bionsumos utilizando-se de matéria prima presente na própria natureza produz bioprodutos que auxiliam na produção de alimentos e na criação de animal de forma menos onerosa ao produtor e com menos degradação ao meio ambiente o que se alinha perfeitamente a pauta da Agenda 2030 que é acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente e o clima e garantir que as pessoas, em todos os lugares, possam desfrutar de paz e de prosperidade.

Em torno e em sintonia com a experiência brasileira, outros países como Argentina (GOULET e HUBERT, 2020; GOULET et al., 2020), Colômbia e Chile têm buscado conformar iniciativas de participação regional com representações de autoridades de fomento e controle, as quais são responsáveis por discutir o potencial de expansão dos bioinsumos a partir da construção de políticas públicas.

A tecnologia e os bioinsumos utilizados no Brasil careciam de regularização própria e, devida a sua vasta extensão em abrangência e potencial utilização no mercado agrícola, faz se importante a normatização da lei para que se estabeleça uma segurança jurídica, sanitária em comercializar, fabricar e se utilizar tais produtos e derivados biotecnológicos.

Os avanços técnicos-científicos e legislativos do setor de bioinsumos têm sido realizados especialmente no setor agrícola para o manejo de insetos e doenças, bem como relacionados à nutrição de plantas e à fertilidade dos solos, o que pode ser constatado pela tecnologia dos inoculantes amplamente utilizados, por exemplo, no cultivo de soja e pela liderança no mercado de produtos para controle biológico de pragas, referenciado pelos produtos comerciais disponíveis. (VIDAL, 2023)

Tem-se o estado de Goiás como pioneiro na regulamentação do fomento da prática de bioinsumos, pois foi o primeiro a implantar a Lei Estadual de Bioinsumos, Lei nº 21.005 de 14 de maio de 2021, a qual instituiu o Programa Estadual de Bioinsumos no estado goiano.

Outros estados também já aderiram a essa expansão agrícola tecnológica dos bioinsumos buscando a sua regulamentação legal, para que haja uma utilização de forma mais segura desses produtos, como: Estado do Mato Grosso do Sul ( Lei Estadual 5.966 de 27 de outubro de 2022, Rio de Janeiro ( Projeto de Lei 4538 de 2021, Mato Grosso ( Lei Estadual 12.117 de 18 de maio de 2023).

O tema, Bioinsumos, ainda é novo e bastante promissor no mercado de produção "*on farm*", relatos do próprio ministério da agricultura em evento realizado no mês de maio de 2023 em São Paulo, trouxe dados que o faturamento anual de produtos que envolvem a tecnologia de bioinsumos movimentou cerca de 5 milhões de reais, o que nos diz que a regulamentação desses através de normatização legal seja realizada o quanto antes para que os envolvidos no processo possuam maior segurança jurídica.

Em reportagem do jornal Estadão, os bioinsumos, segundo a Organização das Nações Unidas (ONU) para a Alimentação e Agricultura (FAO) são considerados uma

das soluções para os problemas da fome no mundo. A Agência estima que em 2050, a população mundial alcançará 9 bilhões de pessoas e grande parte da produção agrícola do planeta é nociva ao meio ambiente. E, com a utilização dos bioinsumos e com os métodos de produção sustentáveis haveria uma diminuição nos riscos de contaminação das pessoas por agrotóxicos. (ESTADÃO, 2023)

Através dessa regulamentação haverá maior investimentos em estudos na área. A dedicação e fomento de políticas públicas que tragam a implantação do uso dos bioinsumos deve partir tanto das esferas federais, quanto das esferas estaduais e municipais, pois a sua utilização beneficia a todos, seja os grandes produtores até a produção considerada familiar, sem contar no benefício ao meio ambiente, pois se utiliza de produtos e mecanismos já provenientes da natureza na produção de outros bens e produtos sem a adoção de produtos químicos.

O projeto de Lei 3668/2021, referente a cadeia de uso e produção dos bioinsumos na agricultura brasileira está, até o presente momento, depois de desenvolvimento e evolução através de discussões se aproximando da fase sancionatória pelo Presidente da República, desde o dia 19 de outubro de 2023 se encontra em análise pela Comissão de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, a qual terá 5 sessões a partir do dia 20 de outubro do presente ano com o intuito de se fazer propostas de futuras emendas aos projeto de lei ( Congresso Nacional, 2023).

O intuito legal da lei (projeto de lei) referente aos bioinsumos é justamente permitir maior segurança jurídica às questões relativas ao tema tratado, pois realiza a delimitação de um corpo técnico responsável por estabelecer regulamentação e governança referentes à produção, registro e ao próprio uso de bioinsumos.

Cabe ao Poder Executivo, conforme texto (pré) legal, utilizar-se como forma de incentivos, mecanismos financeiros, fiscais e tributários, que favoreçam o desenvolvimento, a produção, uso e comercialização de bioinsumos na agricultura.

As questões relativas à fiscalização da produção, importação com finalidade comercial e uso próprio; e registro dos estabelecimentos e produtos, compete ao órgão federal da agricultura, Ministério da Agricultura, já as questões relativas à fiscalização do comércio e do uso dos bioinsumos, do armazenamento, transporte de produtos químicos e biológicos usados na produção de bioinsumos e da produção desses em estabelecimentos rurais e uso próprio, fica a cargo dos órgãos dos Estados e do Distrito Federal. A lei (projeto de lei) em seu capítulo VII também aborda as penalidades, infrações e sanções possivelmente aplicadas caso descumprida alguns dos requisitos estabelecidos no ordenamento. Faz-se compreender que o projeto de lei além de necessário está completo, pois aborda de forma complexa todo o tema de bioinsumos.

## 2.3 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOINSUMOS

Os bioinsumos constituem hoje uma nova promessa tecnológica que abre a possibilidade de conciliar interesses dentro do âmbito agrícola, oferecendo soluções inovadoras para responder a um crescimento cada vez maior por parte dos consumidores e setor produtivo que exigem mudanças ao uso expressivo de agrotóxicos (VIDAL et al.,2020).

Os bioinsumos depreendem três grandes categorias (I) biofertilizantes, (II) bioestimulantes e (III) biodefensivos (defensivosbiológicos), que se particularizam na sua função predominante durante o desenvolvimento vegetal.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| BIOINSUMO | Biofertilizante | Microbiológico | | Fixadores de N |
| | | | | Mobilizadores de K |
| | | | | Solubilizadores $P_2OS$ |
| | Bioestimulante | Manejo abiótico de estresse | | Aminoácidos |
| | | | | Microrganismos |
| | | | | Extrato de plantas |
| | | | | Ácidos orgânicos |
| | | | | Algas |
| | Defensivo Biológico | Substância química natural | Semiquímico | Feromônios |
| | | | | Aleloquímicos |
| | | | Bioquímico | Ácidos orgânicos |
| | | | | Enzimas |
| | | | | Extratos de plantas |
| | | | | Promotores de crescimento vegetal (PCV) |
| | | Agente de controle biológico | Microbiológico | Bactérias |
| | | | | Fungos |
| | | | | Leveduras |
| | | | | Protosoários |
| | | | | Vírus |
| | | | Macrobiológico | Insetos |
| | | | | Ácaros |
| | | | | Nematóides |

Figura 1. Categorias de bioinsumos para uso agrícola

Fonte:Adaptado de Brasil (2020) e Dunham Trimmer (2018).

### 2.3.1 BIOFERTILIZANTES

Os biofertilizantes são produzidos a partir de uma ou mais linhagens de microrganismos benéficos que, quando aplicados no solo ou nas sementes, promovem o crescimento da planta ou favorecem o uso de nutrientes em associação com a planta ou sua rizosfera (ALTIER et al., 2012; SARITHA, TOLLAMADUGU, 2019). Os biofertilizantes são capazes de atuar direta ou indiretamente sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, promovendo o aumento de sua produtividade ou a melhoria de sua qualidade, incluídos

os processos e tecnologias derivados desta definição (BRASIL, 2020). Nesta classe de bioinsumo estão incluídos os inoculantes à base de rizóbios, micorrizas e rizobactérias, que promovem o crescimento das plantas (ALTIER et al.,2012).

### *2.3.2 BIOESTIMULANTES*

Para os bioestimulantes não existe uma definição universal, mas a maioria dos autores se referem a estes como produtos que aumentam o crescimento e aprodutividade da lavoura e gerenciam o estresse abiótico da safra (MARRONE, 2019). Os bioestimulantes contém substâncias naturais com diferentes composições, concentrações e proporções, podendo ser aplicados diretamente nas plantas, nas sementes e no solo, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade de sementes, estimular o desenvolvimento radicular, favorecer o equilíbrio hormonal da planta e a germinação mais rápida e uniforme, interferir no desenvolvimento vegetal, estimular a divisão, a diferenciação e o alongamento celular (BRASIL, 2020).

### *2.3.3 DEFENSIVOS BIOLÓGICOS*

No conjunto dos defensivos biológicos, encontram-se os agentes de controle biológico, que são organismos (micro e macro) benéficos para a lavoura e que fazem parte de um grande número de produtos fitossanitários. Os microrganismos são estudados e incorporados a formulações: bioinseticida; biofungicida; bioherbicida; bionematicida; bioacaricida; permitindo recomendações de uso de acordo com cada cultura, em função das pragas e doenças que as afetam (DUNHAMTRIMMER, 2018; CROPLIFE,2020; BRASIL,2020). O modo de ação dos defensivos biológicos varia de acordo com os agentes biológicos utilizados como ingredientes ativos e pode ser agrupado em relação ao comportamento do organismo: predador, parasitoide, entomopatogênico, competição por espaço e nutrientes, etc (ABBEY et al.,2019).

Nos defensivos biológicos também estão inclusas as substâncias químicas naturais, divididas em: semioquímicos e bioquímicos (CROPLIFE,2020). Ambas são produzidas a partir da manipulação de compostos químicos derivados de organismos vivos e que podem ser utilizados como biodefensivos. Dentre as substâncias extraídas para formulação destes produtos encontramos hormônios, enzimas, feromônios e outros metabólitos naturais. Esses produtos são utilizados como repelentes, indutores de esterilidade, modificadores de comportamento e reguladores de crescimento (DUNHAM TRIMMER, 2018; ABBEY et al., 2019).

Muito dos biodefensivos bem-sucedidos são baseados em compostos produzidos pelos microrganismos que agem diretamente no patógeno. Por exemplo, *Bacillus thuringiensis* produz proteína tóxica que se cristaliza no aparelho digestório do inseto, causando sua morte (BODE, 2009). Outro produto, baseado em *B. subtilis*, contém uma

combinação de lipopeptídeos (agrastatinas) (MARRONE, 2002), que são produzidos e otimizados na fermentação, proporcionando maior e mais consistente eficácia de campo contra doenças fúngicas do que esporos bacterianos vivos. Algumas fitotoxinas são produzidas por microrganismos e apresentam potencial herbicida (DUKE, DAYAN, 2011).

Dessa maneira, os defensivos biológicos têm modos de ação exclusivos, complexos e, geralmente, múltiplos (MARRONE, 2019), o que significa que pragas e patógenos causadores de doenças em plantas têm risco baixo de desenvolver resistência a eles (GLARE et al., 2012). A maioria dos pesticidas químicos atuais tem um único local de ação, atacando uma via metabólica vulnerável da praga. Portanto, após o uso repetido de um pesticida químico, as pragas desenvolvem resistência ao produto. Quando ocorre resistência, os pesticidas não apresentam o desempenho esperado na lavoura (MARRONE, 2019).

Os biodefensivos também oferecem a vantagem de maior seletividade e menor ou nenhuma toxicidade em comparação aos pesticidas químicos convencionais (MISHRA et al., 2015).

Figura 2–Diferenças entre agroquímicos e biodefensivos

Fonte: adaptado de Marrone (2019) e Abbey (et al.,2019).

Muitos microrganismos usados em biodefensivos oferecem uma série de benefícios adicionais além da virulência a um alvo primário. As espécies de *Trichoderma* são conhecidas por aumentar a absorção de macro e micronutrientes do solo pelas plantas (KÖHL et al., 2011) e isolados específicos podem proporcionar benefícios substanciais ao crescimento das plantas na ausência de uma doença (HARMAN, 2011). Fungos entomopatogênicos também podem ter atividade antagônica contra patógenos de plantas que atacam a mesma

cultura (CLOUSTON et al., 2010). Benefícios adicionais às atividades de controle de pragas podem ser um importante critério de seleçãoo em programas de triagem para escolher isolados comercialmente atraentes, o que possibilita a oportunidades significativas para a comercialização de biodefensivos como produtos com valor agregado (OWNLEY,2010).

## 3 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este capítulo mostrou que a história dos bioinsumos se mistura com o início da agricultura, na medida em que foi observado que as excretas animais poderiam fertilizar o solo (EIGENHEER, 2009). Até hoje a utilização de esterco animal curtido é um dos principais bioinsumos da agricultura orgânica e a base para construção de solos férteis e plantas saudáveis, que por sua vez são menos suscetíveis ao ataque de pragas e doenças (CHABOUSSOU, 2006).

Muito se avançou nos últimos tempos com as legislações sobre bioinsumos, permitindo a testagem científica, a padronização, comercialização e difusão das tecnologias ligadas aos bioinsumos. Esse processo pavimenta o caminho para a implementação de uma Bioeconomia Circular (GIANPIETRO, 2019), em que os processos de transformação estejam altamente integrados, viabilizando a utilização de co-produtos e resíduos enquanto bioinsumos.

A área dos bioinsumos já tem impactado a produção agropecuária e será importante ferramenta para reduzir o uso de agrotóxicos e aumentar a sustentabilidade dos agroecossistemas, reinserindo na prática agrícola os princípios ecológicos. É de extrema importância que se formem profissionais de qualidade para que possam assessorar agricultores nessa transição, compreendendo que não se trata mais de produtos químicos estáveis, mas de insumos vivos que devem ser manejados observando sua conservação, e atentando-se às épocas de aplicação para alcançar eficácia.

## REFERÊNCIAS


ABBEY, L.; et al. Biopesticides and Biofertilizers: Types, Production, Benefits, and Utilization. In: SIMPSON, B. K.; ARYEE, A. N. A.; TOLDRÁ, F. **By products from Agriculture and Fisheries**: Adding Value for Food, Feed, Pharma, and Fuels.p. 479-500.2019.

ALTIER, N.; BEYHAUT, E.; RIZZA, M.R.; RIVAS, F. Plataforma de bioinsumos de uso agrícola em base a microoganismos benéficos. **RevistaINIA**.n.29.p.47-50.Julio,2012.

BODE, H.B. Entomopathogenic bacteria as asource of secondary metabolites. **Curr.Opin.Chem.Biol.** Elsevier.v.13, p .224–230.2009.

BUENO, V. H. P.; PARRA, J. R. P.; BETTIOL, W.; van LENTEREN, J. C. Biological control in Brazil. In: van LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.P.; LUNA, 78-107, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Conheça a base conceitual do Programa Nacional de Bioinsumos**. 2020. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o programa/conceitos. Acesso em: 22 nov.2023.

_______. Decreto Nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Diário Oficial da União, 27 de maio de 2020. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019- 2022/2020/decreto/D10375.htm >. Acesso: 19 de agosto de 2023.

_______. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Diário Oficial da União. 27 de maio de 2020, p. 105 a 106.

BUTU, Marian et al. Biopesticides: Clean and viable technology for healthy environment. Bioremediation and Biotechnology: Sustainable Approaches to Pollution Degradation, p. 107-151, 2020.

CHABOUSSOU, Francis. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos (a teoria da trofobiose). Ed. Expressão Popular, 2006, 320 p.

CONGRESSO NACIONAL, 2023. Disponível em https://www.congressonacional.leg.br/materias/materias-bicamerais/-/ver/pl-3668-2021. Acesso: 24 de outubro de 2023.

CLOUSTON, A. M. et al. A bioassay screening *Trichoderma* isolates for enhancement of root development in *Impatiens walleriana* cuttings. **N. Z. Plant Prot**. v.63, p.33–38.2010.

CROPLIFE. **Produtos Biológicos**. 2020. Disponível em: https://croplifebrasil.org/produtos-biologicos/. Acesso em:05 nov.2023

DUNHAM TRIMMER. **Biologicalproducts marketsaround theworld**. Spring Meeting & International Symposium. Mar. 2018.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.Modes of action of microbially-produced phytotoxins. **Toxins**.v.3, p.1038–1064.2011.

EIGENHEER, E. M. Lixo: A limpeza urbana através dos tempos. Porto Alegre, RS: Ed. Elsevier, 2009. 144 p.

ESTADÃO, 2023. Disponível em https://summitagro.estadao.com.br/sustentabilidade/mercado-de-bioinsumos-cresce-e-tem-futuro-promissor-no-brasil/, acesso em 15 de agosto de 2023.

FAO. International Year of Plant Health. Disponível em: < http://www.fao.org/planthealth-2020/take-action/en/>. Acesso em:21 de agosto de 2023.

GARCIA, JLM. O nim indiano: o bioprotetor natural. Série Agricultura Alternativa. Junho, 2000. Disponível em: https://www.gov.br/fundaj/pt-br/destaques/observa-fundaj-itens/observa-fundaj/plantas-xerofilas/o-nim-indiano-o-bioprotetor-natural. Acessa do em 20/08/2023.

GIAMPIETRO, Mario. On the circular bioeconomy and decoupling: implications for sustainable growth. Ecological economics, v. 162, p. 143-156, 2019.

GOIÁS. Casa Civil. Lei 21.005 de maio de 2021 que instituiu o Programa Estadual de Bioinsumos. Disponível em https://legisla.casacivil.go.gov.br/api/v2/pesquisa/legislacoes/103967/pdf.

GORELICK, J.; Rosenberg, R.; Smotrich, A.; Hanuš, L.; Bernstein, N. Hypoglycemic Activity of Withanolides and Elicitated Withania Somnifera. *Phytochemistry* 2015, *116*, 283–289

GOULET, Frederic; HUBERT, Matthieu. Making a Place for Alternative Technologies: The Case of Agricultural Bio-Inputs in Argentina. Review of Policy Research, v. 37, n. 4, p. 535-555, 2020.

GLARE, T.; et al. Have biopesticides come of age? **Trends in Biotecnolog**. Elsevier. v.30, n.3, p.250-8.2012.

HANDAYANI, K., Janah, S., Ekowati, C., & Kanedi, M. (2023). Larvicide effects of Bacillus sp isolated from soil against fall armyworm Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.3.0088.

HARMAN, G.E. Trichoderma-not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**. Springer, v.39, p.103–108.2011.

KÖHL, J. et al. Step wises creening of microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and bacteria. Biol. Control. Elsevier. v.57, p.1–12.2011.

LINS, J. Terra Preta de Índio: uma lição dos povos pré-colombianos da Amazônia. Agriculturas. Vol. 12. No01. p.37-41. 2015.

M.G.; COLMENAREZ, Y.C. (Eds.). Biological control in Latin America and the Caribbean: its rich history and bright future. Wallingford: CABI. p.

MAPA, 2023. Disponível em https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos, acesso em 15 de agosto de 2023.

MARRONE, P.G. An effective biofungicide with novel mode of action. **Pestic. Outlook.**v.13, p.193–194.2002.

MATO GROSSO DO SUL. Lei 5966 de 27 de outubro de 2022 que instituiu o Programa de Bioinsumos do Estado do Mato Grosso do Sul. Disponível em: https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=437976.

MAZOYER, Marcel; ROUDART, Laurence. Histórias das agriculturas no mundo. Do neolítico à crise contemporânea. Universidade Estatal Paulista (UNESP), 2010.

MEDEIROS, C.A.B. & ESPINDOLA, J.A. (2018). Produção sustentável de alimentos. Capítulo 5 In: Fome zero e agricultura sustentável: contribuições da Embrapa / Carlos Alberto Barbosa Medeiros... [et al.], editores técnicos. – Brasília, DF: Embrapa, 2018. 1ª edição E-book..

MEYER, Maurício Conrado et al. Bioinsumos na cultura da soja. Embrapa Soja, 2022.

MISHRA J. et al. Biopesticides in India: technology andsustainabilitylinkages.3 Biotech. **Springer**. v.10. art. n .210.2020.

OBERC, B. P. e Schnell, A. A. (2020). Approaches to sustainable agriculture: Exploring the pathways towards the future of farming. Brussels, Belgium: IUCN EURO.

OWNLEY, B.H.; et al. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. BioControl.v.55, p.113–128.2010.

PARRA J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. Scientia Agricola, v. 71, p. 345–355, 2014.

PRIMAVESI, Ana. Manual do solo vivo: solo sadio, planta sadia, ser humano sadio. São Paulo: Expressão Popular, 2016. Pesticida Natural Products:status and future potential. **Pest Manag Sci**.n.75p.2325–2340.2019.

RIO DE JANEIRO. Assembleia Legislativa do Estado do Rio de Janeiro. Projeto Lei 4538 de 2021 que visa instituir o Programa Estadual de Bioinsumos do Rio de Janeiro. Disponível em http://www3.alerj.rj.gov.br/lotus_notes. Acesso em 25 set 2023.

SARITHA, M.; TOLLAMADUGU, N.V.K.V.P. The Status of Resear chand Application of Biofertilizer sand Biopesticides: Global Scenario. In: **Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry**.Elsevier.p.196-207. 2019.

STEINHAUS, E. (1956). Microbial control—the emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the nineteenth century, 26, 107-160. https://doi.org/10.3733/HILG.V26N02P107.

TOLEDO, Víctor M.; BARRERA-BASSOLS, Narciso. A Memória Biocultural: A importância ecológica das sabedorias tradicionais. Editora Expressão Popular, 2015.

VIDAL, Mariane C.; DIAS, Rogério P. BIOINSUMOS A PARTIR DAS CONTRIBUIÇÕES DA AGROECOLOGIA. Revista Brasileira de Agroecologia, v. 18, n. 1, p. 171-192, 2023. ISSN: 1980-9735. DOI: https://doi.org/10.33240/rba.v18i1.23735.

VIDAL, M. C.; SALDANHA,R.;VERISSIMO,M.A. A. Bioinsumos: o programa nacional e a sua relação com a produção sustentável .In: GINDRI,D.M.; MOREIRA,P.A. B.,VERISSIMO,M.A.A. (org.).**Sanidade vegetal**: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável.1 ed. Florianópolis:CIDASC,2020.

VINALE. F.; KRISHNAPILLAI. S.; GHISALBERTIC. L. E.; MARRAA. R.; WOOA. L. S. AND LORITOA. M. Trichoderma-Plant-Pathogen Interactions. Soil Biology & Biochemistry, 40, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.soilbio. 2007.07.002.

# CAPÍTULO 2

# AVALIAÇÃO DO USO DO MANANOLIGOSSACARÍDEO NA DIETA DE ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) VARIEDADES GIFT E ROSA (*Saint Peter*)

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Mayara Vidal Fernandes**

**Katia Kalko Schwarz**

**Bianca Bueno Schlottag**

**RESUMO-** Este experimento foi realizado no Laboratório de Estudos Animais – LabMEA, da Universidade Estadual do Paraná, campus de Paranaguá, objetivando avaliar a suplementação de Mananoligossacarídeo na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem *Gift* e *Saint-Peter*, durante 60 dias. Os peixes (n=192) foram distribuídos 16 tanques com capacidade de 45 litros, com borda livre de 10 cm e 12 alevinos cada. O delineamento foi feito em blocos, sendo composto por quatro tratamentos e quatro repetições, sendo eles, T1= Tilápia *Gift*, tratamento testemunha; T2= Tilápia *Gift*, 0,25% de MOS; T3= Tilápia *Saint-Peter* (Rosa), tratamento testemunha; T4= Tilápia *Saint-Peter* (Rosa), 0,25% de MOS. A dieta controle (tratamento 1 e 3) foi elaborada para conter 36% de PB e 3.469 Kcal de ED/kg e pellets de aproximadamente 1mm. Os tratamentos 2 e 4, foram suplementados com 0,25 mg $kg^{-1}$ MOS em substituição ao milho da dieta controle. Foram observados maiores valores (P<0,05) para peso médio final, consumo de ração na linhagem Saint Peter sem diferir no ganho de peso em comparação à linhagem *Gift*. Não foram observadas diferenças significativas para os parâmetros avaliados para desempenho zootécnico nos tratamentos com adição de MOS em comparação com os tratamentos testemunhas tanto na linhagem *Saint Peter*, quanto na linhagem *Gift.* Menor valor para comprimento do intestino foi observado na linhagem *Gift* tanto no tratamento suplementado, quanto na dieta controle em comparação com a dieta testemunha da linhagem Saint Peter.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fisiologia. Peixe. Prebiótico.

## EVALUATION OF THE USE OF MANNANOLIGOSACCHARIDE IN THE DIET OF NILE TILAPIA FINGERLINGS (*Oreochromis niloticus*) GIFT AND ROSE (*Saint Peter*) VARIETIES

**ABSTRACT -** This experiment was carried out in the Animal Studies Laboratory - LabMEA, of the Paraná State University, Paranaguá campus, aiming to evaluate

the supplementation of mannan-oligosaccharide in the diet of fingerlings of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) line Gift and Saint-Peter, during 60 days. The fish (n=192) were distributed in 16 tanks with 45-liter capacity, 10-cm freeboard, and 12 fingerlings each. The design was done in blocks, composed of four treatments and four repetitions, being them, T1= Tilapia Gift, control treatment; T2= Tilapia Gift, 0.25% MOS; T3= Tilapia Saint-Peter (Pink), control treatment; T4= Tilapia Saint-Peter (Pink), 0.25% MOS. The control diet (treatments 1 and 3) was designed to contain 36% BW and 3,469 Kcal ED/kg and pellets of approximately 1mm. Treatments 2 and 4, were supplemented with 0.25 mg kg-1 MOS to replace the corn in the control diet. Higher values (P<0.05) were observed for mean final weight, feed consumption in the Saint Peter strain without differing in weight gain compared to the Gift strain. No significant differences were observed for the parameters evaluated for zootechnical performance in the treatments with added MOS compared with the control treatments for both the Saint Peter and Gift breeds.
**KEYWORDS:** Physiology. Fish. Prebiotic.

## INTRODUÇÃO

No ano de 2020 a produção brasileira de tilápia cresceu 12,5% em relação a 2019, atingindo cerca de 486.155 toneladas, levando o Brasil ao ranking de 4º maior produtor desta espécie, de acordo com os dados da Peixe BR (2021), sendo o Paraná o maior criador brasileiro e o segundo maior exportador de peixes do Brasil (Secretaria da Agricultura de Estado do Paraná, 2020).

O aporte paranaense de tilápia representou 21,4% da produção nacional com aproximadamente 166.000 toneladas no ano de 2020, puxado pelo modelo cooperativista de integração pela Copacol e C. Vale, o que vem incrementando a piscicultura no Estado (Peixe PR, 2021).

As tilápias, conforme Embrapa (2013), são peixes da ordem dos Perciformes, família Cichlidae e originárias da África, Israel e Jordânia, compreendem várias espécies dos gêneros *Oreochromis*. A tilápia-do-Nilo possui coloração acinzentada e são tidas cosmopolitas e apresentam variedades: vermelha ou rosa, conhecida também como *Saint Peter*, foi desenvolvida nos Estados Unidos (Flórida) e podem ser usadas em cultivos por apresentarem algumas vantagens em relação a linhagens mais puras (EMBRAPA, 2013); a linhagem GIFT (Genetic Improved Farmed Tilapia) tem sido a mais utilizada no Brasil, assim como a Supreme, Chitralada ou a Tailandesa por serem mais produtivas (EMBRAPA, 2013, RESENDE, 2016).

Com a cadeia produtiva da piscicultura cada vez mais competitiva, surgem dúvidas entre os produtores sobre quais variedades utilizar, visto a possibilidade que a tilápia rosa possa ser mais rentável, considerando ainda que a indústria de rações procura desenvolver dietas atendendo as exigências nutricionais adequadas para melhorar a performance dos peixes, utilizando aditivos nas formulações (BALDISSEROTTO *et al*., 2017; BALDISSEROTTO, 2020).

Entre os aditivos adicionados na dieta animal estão os prebióticos, e o mananoligossacarídeo (MOS) tem sido uma alterativa por apresentar um complexo grupo de carboidratos não digeríveis derivados da parede celular de cepas de leveduras vivas da *Saccharomyces cerevisiae,* que constituem uma parte rica em manose disponíveis para adesão bacterianas adsorvendo os patógenos e impedindo a sua ligação a parede intestinal, além de melhorar a integridade da vilosidade e dos enterócitos, bem como da conversão alimentar resultando na melhora da saúde do animal e no retorno financeiro da produção animal (SCHWARZ *et al*., 2016; BALDISSEROTTO *et al*., 2017).

Estudos têm demonstrado o efeito benéfico de probióticos e prebióticos que, quando adicionados à dieta dos peixes, aumentam o equilíbrio microbiano intestinal, produzem e estimulam a atividade de enzimas digestivas, melhorando assim a digestibilidade da ração, acelerando as defesas dos animais por ativação das células fagocíticas e atuando como imunoestimulantes, além de possuir efeitos positivos no desempenho morfológicos dos peixes. (BEDFORD; COWIESON, 2012; ALEMAYEHU *et al*. 2018; JUNQUEIRA, 2005).

Em dieta suplementada com um prebiótico comercial composto por MOS e β-glucan, Abu-Elala *et. al*. (2018) tiveram aumento no ganho de peso corporal vivo e taxa de crescimento específico, além de maiores valores na conversão alimentar. Hisano *et. al*. (2006) e Schwarz *et. al.* (2010), obtiveram valores superiores na altura de vilos intestinais em peixes com suplementação de MOS quando comparados aos que receberam dieta isenta do prebiótico.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos do mananoligossacarídeo (MOS) adicionados na dieta dos alevinos de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem *SaintPeter* e *Gift* e seus efeitos, considerando a necessidade do uso de prebióticos como uma alternativa biológica para melhora do desempenho zootécnico para uma aquicultura sustentável.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material biológico e procedimentos

Este estudo foi realizado no Laboratório Multidisciplinar de Estudos Animais (Labmea) da Universidade Estadual do Paraná campus de Paranaguá, utilizando alevinos de Tilápia do Nilo linhagem *Gift* (n=96), oriundos do Laboratório de Larvicultura, “S3 Piscicultura” de Registro-SP, e linhagem *Saint Peter* (n=96), oriundos da psicultura Aquacultura Nilotica (Timbó/SC), que vieram inspecionados e com Guia de Transporte Animal (GTA).

Os alevinos foram distribuídos em quatro tratamentos e quatro repetições, em tanques de capacidade 45 litros de água e 10 cm de borda livre, com uma densidade de 12 alevinos para cada unidade experimental. As duas espécies foram alimentadas com ração peletizada com 36% de proteína bruta e 3.469 Kcal de energia aproximadamente, com

“pellets” de aproximadamente 1mm, para melhor alimentação dos peixes.

Em sistema de recirculação fechada, utilizando filtro biológico, termostatos para controle da temperatura e pedras microporosas ligadas a mangueiras de silicone em compressores de ar, para realizar a aeração.

## Sistema de recirculação de água

Com o objetivo de otimizar o uso da água foi desenhado um sistema de recirculação fechado que possam ser desmontados e alterados para subsidiar experimentos futuros. No desenho inicial, 24 tanques de 50 litros ficaram dispostos em cima de uma bancada, enfileirados em duas linhas paralelas, separados em 4 sistemas contendo 6 tanques cada.

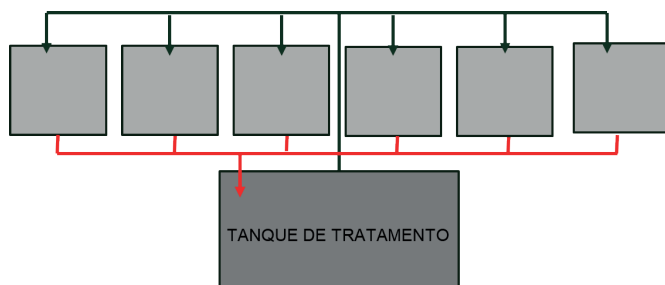



Figura 1 - Esquema de sistema de recirculação utilizado.

O sistema de recirculação é fechado, com canos e conexões de PVC de 20mm, acoplados a uma bomba de recirculação de 2.000L/hora. A água que sai das caixas por gravidade, é controlada por registro e cai em uma caixa de filtragem, com feltro, espuma, filtro siliconado, mídias nitrificantes e a bomba retorna a água filtrada aos tanques. Substratos artificiais, as chamadas “mídias” são utilizadas para que haja o aumento de área de fixação de bactérias nitritificadoras que oxidam a amônia a nitrito (gêneros *Nitrossomas, Nitrosococcus e Nitrosolubus*), e nitratificadoras que por sua vez vão oxidar o nitrito a nitrato (gêneros: *Nitrobacter, Nitrospina e Nitrococcus*) contribuindo para uma melhor manutenção da qualidade da água no sistema.

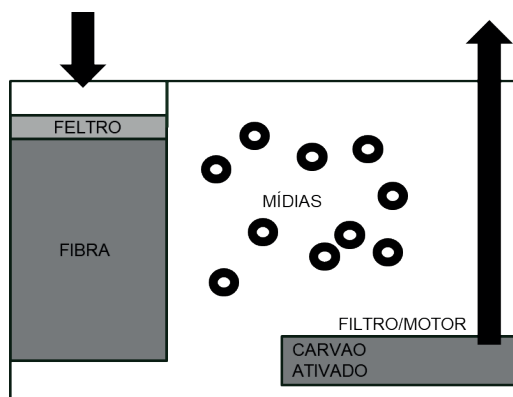



Figura 2 - Esquema dos sistemas de filtragem mecânica e biológica adotados.

## Preparação da ração

Uma dieta controle experimental foi preparada de acordo com as exigências da espécie, elaborada pelo Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya do Departamento de Zootecnia da UEPG (Universidade Estadual de Ponta Grossa), em 2021 exclusivamente para esta pesquisa com ração composta por 36% de proteína bruta e 3.469 Kcal de energia aproximadamente. (FURUYA *et al.* 2010) (Tabela 1). A adição de MOS (contendo 23 % de β-glucanos, 21% de α-mananos, 28% de proteínas, 1% de fósforo, 95% de matéria seca, 20% de lipídeos e 4% de cinzas) foi realizada em substituição ao milho da dieta.

| Ingrediente | (%) |
|---|---|
| Farelo de soja 45% | 44,00 |
| Farinha de peixe 54% | 18,00 |
| Proteína isolada de soja | 12,00 |
| Milho grão 7,92% | 12,00 |
| Farelo de Trigo | 09,00 |
| Óleo de soja | 0,300 |
| Carboximetilcelulose | 01,50 |
| Fosfato bicálcico | 01,00 |
| Sal comum | 00,10 |
| Suplemento mineral vitamínico[1] | 00,50 |
| DL-Metionina | 00,38 |
| Antifúngico | 00,10 |
| BHT | 00,02 |
| TOTAL | 100,00 |
| Proteína bruta (%) | 36,00 |
| Energia digestível (kcal/kg) | 3469,6099 |
| Fibra bruta (%) | 0,72 |

| | |
|---|---|
| Cálcio (%) | 1,4215 |
| Fósforo disponível (%)[1] | 0,77 |
| Extrato etéreo (%) | 6,00 |
| Vitamina C, (mg/kg)[1] | 350,00 |

Tabela 1 - Composição percentual da dieta controle utilizada para alimentação de juvenis de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus). [1]Suplemento Mineral Vitamínico: Composição por kg: Vit. A=1200.000UI; vit. D3=200.000UI; vit. E=12.000 mg; vit. K3=2.400 mg; vit. B1=4.800 mg; vit. B2=4.800 mg; vit. B6=4.000 mg; vit. B12=4.800 mg; ácido fólico= 1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; vitamina C=48.000 mg; biotina=48 mg; colina=65.000 mg; niacina=24.000 mg; Cu=600 mg; Fe=10.000 mg; Cu= 600 mg; Mg= 4.000 mg; Zn=6.000mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se=20 mg.

Para o preparo, os componentes foram processados individualmente em liquidificador e posteriormente peneirados com peneira de 0,5 mm. pós a adição de todos os ingredientes a ração foi homogeneizada e, ainda úmida, passada no moedor para peletização e, posteriormente, seca na estufa a 50°C durante 24 horas. A ração foi pesada e distribuída em 20 frascos plásticos, e fixados a seus respectivos tanques.

Figura 3 - Processos da fabricação de ração. A: peneiramento; B: Mistura dos ingredientes; C: Passagem pelo moedor; D: Peletização e secagem; E: armazenamento.

## Procedimentos de rotina

Foram avaliados diariamente, no período vespertino, os parâmetros de pH, temperatura (°C), e oxigênio dissolvido (mg.$L^{-1}$) utilizando pHmetro e oxímetro, enquanto que parâmetros de nitrito e nitrato foram mensurados semanalmente com o auxílio de “kits” Labcontest®.

A ração foi distribuída três vezes ao dia (8; 12 e 17 horas) “*ad libtum*”, manualmente até a saciedade aparente. A manutenção dos tanques de filtragem de água foi realizada uma vez ao dia às 16 horas através do método da sifonagem, para a retirada das fezes, removendo cerca de 5% da água durante todos os dias do experimento, caso o sistema de filtragem demonstrar sobrecarga.

Foram realizas, no início, aos 60 dias, biometrias para obtenção das medidas de peso e comprimento total dos peixes, com utilização de paquímetro e balança de precisão (0,001g). Posteriormente tais valores foram empregados no cálculo e avaliação das variáveis

zootécnicas: peso médio (PM); consumo da ração (CR); ganho de peso (GP) (peso médio final-peso médio inicial); conversão alimentar (CA) (consumo de ração/ganho de peso); taxa de sobrevivência (SOB) (número de indivíduos final/número de indivíduos inicial) x 100); peso do peixe individual (PP); comprimento do peixe individual (CP); e comprimento do intestino (CI) aos 60 dias. Seis peixes de cada grupo foram retirados aleatoriamente aos 60 dias para realizar posteriores análises corporais.

### Amostras biológicas

Ao final do experimento, três peixes de cada unidade experimental foram pesados e medidos individualmente e emergidos em solução anestésica de Eugenol: 300mg/L de acordo com Vidal *et al.* (2008), os mesmos foram utilizados para retirada de intestino, o processo foi realizado com a utilização de materiais cirúrgicos (tesoura, pinça e bisturi), e mensurado comprimento do intestino.

### Análise estatística

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com o tipo de dieta, tempo e ambas. Quando significativo foi seguido de teste de Tukey, com significância determinada em $P<0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico R®.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros físico-químicos da água 25,5 a 28,0°C, oxigênio dissolvido de 5,5 a 7,5 mg.L$^{-1}$, pH entre 6,5 a 7,5, amônia de 1,5 a 3,0 mg.L$^{-1}$ e nitrito de 0,5 a 1,75 mg.L$^{-1}$ e não diferiram entre os tratamentos. Os valores obtidos para amônia e nitrito não foram os adequados para esta espécie de peixe conforme recomendação feita por Aranã (2013). Porém, foi observado uma baixa mortalidade dos alevinos, o que demonstra que a espécie apresenta resistência a essas condições.

| Parâmetro | 16 a 31 de maio | 1 a 15 de junho | 16 a 30 de junho | 1 a 15 de julho |
|---|---|---|---|---|
| Temperatura (°C) | 26,6 | 26,4 | 25,9 | 26,5 |
| Oxigênio dissolvido (mg/L) | 6,53 | 6,95 | 6,85 | 6,84 |
| pH | 7,3 | 7,5 | 7,4 | 7,1 |
| Amônia total (mg/L) | 3,0 | 2,5 | 3,0 | 2,5 |
| Nitrito total (mg/L) | 1,25 | 1,5 | 1,25 | 1,25 |

Tabela 3 - Parâmetros ambientais da água medidos durante o ensaio.

A implantação do sistema de recirculação, ofereceu uma opção ambientalmente viável e de aprendizado aos estudantes, podendo servir de modelo para que os produtores locais possam adaptar em seus cultivos.

### Desempenho zootécnico

Na tabelas seguintes esta contido os resultados obtidos em relação aos parâmetros: peso médio (PMI), peso médio final (PMF), consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), taxa de sobrevivência (SOB) e conversão alimentar (CA).

Não houve diferença significativa (P<0,05) para ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência entre os tratamentos, independente da linhagem e da dieta utilizada. MOS em ambos os tipos de tratamento aumentou significativamente as taxas de sobrevivência em comparação com o controle no estudo realizado por Al-Wakeel *et.al.* (2019).

| | *Saint Peter* | | *Gift* | |
|---|---|---|---|---|
| | Controle | MOS | Controle | MOS |
| Peso Médio Inicial (g) | 10,19 a | 10,01 a | 5,29 b | 5,13 b |
| Peso Médio Final (g) | 14.87 a | 14,41 a | 9,75 b | 10,52 b |
| Consumo da Ração (g) | 140,31 a | 149,78 a | 108,65 b | 109,47 b |
| Ganho de Peso (g) | 4,68 a | 4,40 a | 4,46 a | 5,38 a |
| Taxa de Sobrevivência (%) | 87,50 a | 87,50 a | 72,92 a | 72,92 a |
| Conversão Alimentar | 2,63 a | 2,35 a | 2,59 a | 2,53 a |

Tabela 2 – Desempenho de alevinos de Tilápia do Nilo variedades *Saint Peter* e *Gift* alimentados com dieta suplementada com mananoligossacarídeo. Médias seguidas por letras diferentes na vertical diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a (P<0,05) de probabilidade.

Foram observados maiores valores para peso médio final, consumo de ração na linhagem Saint Peter sem diferir no ganho de peso em comparação à linhagem *Gift*. Não foram observadas diferenças significativas para os parâmetros avaliados nos tratamentos com adição de MOS em comparação com os tratamentos testemunhas tanto na linhagem *Saint Peter*, quanto na linhagem *Gift.* Em contrapartida, Schwarz *et. al.* (2010) obtiveram melhores resultados de conversão alimentar em tratamentos com 1% de MOS e Cechim et. al. (2015) até o nível de 0,4% de suplementação de do prebiótico, em relação à dieta controle.

Al-Wakeel *et. al.* (2019) observaram aumentos significativos nos parâmetros de crescimento e conversão alimentar de tilápias do Nilo submetidas a adição simultânea MOS tanto na água quanto na (0,05% de alimentação + 12,5 mg/l de água) quando comparado com MOS adicionados apenas em água do tanque e grupos de controle.

Cavalcante et. al. (2020), que obtiveram melhores resultados na biomassa final e ganho de peso individual nos grupos tratados com dois prebióticos (MOS + quitosano) em comparação ao simbiótico (MOS + probiótico comercial comporto por *Bifidobacterium* sp, *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium*)

Os peixes abatidos aos 60 dias foram medidos e pesados individualmente, tiveram seu intestino retirado e o mesmo foi medido (Tabela 3), os valores tanto de peso quanto

de comprimento do peixe não diferiram para a mesma linhagem, mas o tratamento suplementado com MOS na linhagem *Gift*, foi inferior aos dois tratamentos tanto com como sem adição do prebiótico na linhagem Saint Peter

| | *Saint Peter* | | *Gift* | |
|---|---|---|---|---|
| | Controle | MOS | Controle | MOS |
| Peso do peixe (g) | 15,92 a | 15,66 a | 12,85 ab | 11,76 b |
| Comprimento do peixe (cm) | 9,78 a | 9,82 a | 9,03 ab | 8,71 b |
| Comprimento do intestino (cm) | 52,58 a | 48,83 ab | 39,83 bc | 36,34 c |

Tabela 3 - Valores médios individuais dos peixes abatidos para análise corporal. Médias seguidas por letras diferentes na vertical diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a ($P<0,05$) de probabilidade.

Menor valor para comprimento do intestino foram observados na linhagem *Gift* tanto no tratamento suplementado, quanto na dieta controle em comparação com a dieta testemunha da linhagem Saint Peter.

Apesar de serem apreciadas pela sua rusticidade, tolerando alterações nos parâmetros da água, como pH, oxigênio dissolvido, amônia, temperatura entre outros (EL-SAYED, 2006), o seu desenvolvimento e capacidade de expressar seu potencial genético fica comprometido com as adversidades ambientais. Por serem oriundas de um cruzamento de espécies, a tilápia rosa possui um genética diferenciada. A variabilidade genética confere maior capacidade de adaptação a ambientes heterogêneos e permite que as progênies apresentem maior capacidade de se confrontar com variações ambientais (PETERSEN *et al.*, 2012).

Schwarz *et. al.* (2016) observaram que a utilização de MOS influenciou o consumo de ração e a conversão alimentar ($P<0,01$) sem diferença significativa de sobrevivência, peso aos 30 e 60 dias, comprimento do intestino e ganho de peso.

O uso de prebiótico não contribuiu para a conversão alimentar no presente estudo, porém, a utilização deste aditivo é considerada recente, e os estudos inferem efeitos positivos no hospedeiro principalmente quando relacionado a ativação do sistema imune (HUYNH *et al.,* 2017; RINGØ; SONG, 2016) O uso combinado destes dois suplementos aumenta o potencial das bactérias probióticas para se estabelecerem e proliferarem no intestino, onde o prebiótico é um dos fatores que contribuem para o seu crescimento (AKHTER *et. al.,* 2015). Esses possíveis efeitos de melhora imunológica e na morfologia do intestino poderiam ser observadas após as análises histológicas.

## CONCLUSÕES

A dieta composta com adição de 0,25% MOS não influenciou no desempenho zootécnico nas duas linhagens, porém o mecanismo específico de ação deste prebiótico ainda não está totalmente adormecido, inclusive sobre a regulação da microbiota intestinal. Desta forma, é essencial a análise sobre as alterações da morfologia intestinal dos peixes

para resultados mais específicos.

A profilaxia resulta em taxas de mortalidade mais baixas e ganhos econômicos para os produtores. Mas ainda são necessários mais estudos para provar a eficácia dos prebióticos, suas doses e tempo de fornecimento.

## AGRADECIMENTOS

Fundação Araucária (Fomento Ciêntifico), Grupo LeSaffre, S3 psicultura.

## REFERÊNCIAS

ABU-ELALA, N. M., YOUNIS, N. A., ABUBAKR, H. O., RAGAA, N. M., BORGES, L. L., & BONATO, M. A. Efficacy of dietary yeast cell wall supplementation on the nutrition and immune response of Nile tilapia. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 4, p. 333-341, 2018.

AKHTER, N., WU, B., MEMON, A.M., MOHSIN, M. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. **Fish & shellfish immunology**, v. 45, n. 2, p. 733-741, 2015.

AL-WAKEEL, A., ZAHRAN, E., HAFEZ, E., HAMED, M., & ZAKI, V. Impacts of Mannan oligosaccharides (MOS) on growth performance andgastrointestinal health of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). **Mansoura Veterinary Medical Journal**, v. 20, n. 3, p. 1-7, 2019.

ALEMAYEHU, T A; GEREMEW, A; GETAHUN, A. The role of functional feed additives in tilapia nutrition. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 9, n. 2, p. 1g-1g, 2018.

ANDRADE, Caniggia Lacerda et al. Nutrição e alimentação de tilápias do Nilo. **Revista Eletrônica de Nutrição**, v. 12, n. 6, p. 4464-4469, 2015ANTIBIÓTICOS: A resistência já é realidade**. Revista Feeding Times**, v. 3, n. 1, p. 9-10, 1998.

ARGHIDEH, M., HOSEINIFAR, S. H., GHORBANI NASRABADI, R., MAZANDARANI, M., EL-HAROUN, E., & VAN DOAN, H. Evaluation of Soil-Derived *Streptomyces chartreusis* KU324443 Effects as Probiotic on Growth Performance, Antioxidant Enzyme Activity, Mucosal and Serum Immune Parameters, and Related Gene Expression in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v. 2022, 2022.

BEDFORD, M. R.; COWIESON, A. J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1-2, p. 76-85, 2012.

CAPUTO, L. F. G., GITIRANA, L.B.; MANSO, P. P. A. Técnicas histológicas. Molinaro EM, Caputo LFG, Amendoeira MRR. Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. **Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio,** p. 89-188, 2010.

CARMO, J. L.; FERREIRA, D. A.; SILVA JÚNIOR, R. F.; SANTOS, R.M.S.; CORREIA, E.S. Crescimento de três linhagens de tilápia sob cultivo semi-intensivo em viveiros. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 20-26, 2008.

CAVALCANTE, R. B., TELLI, G. S., TACHIBANA, L., DIAS, D. DE C., OSHIRO, E., NATORI, M. M., SILVA, W. F. DA, & RANZANI-PAIVA, M. J. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics for Nile tilapia: Growth performance and protection against Aeromonas hydrophila infection**. Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100343, 2020.

CECHIM, F. E., SALES, F. B., SIGNOR, A. A., MICHELS-SOUZA, M. A., SADO, R. Dietary mannanoligosaccharide influenced feed consumption and gut morphology of Nile tilapia raised in net-cage systems. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 3, p. 519-527, 2018.

EL-NOBI, G., HASSANIN, M., KHALIL, A. A., MOHAMMED, A. Y., AMER, S. A., MONTASER, M. M., & EL-SHARNOUBY, M. E. SYNBIOTIC Effects of Saccharomycescerevisiae, Mannan Oligosaccharides, and β-Glucan on Innate Immunity, Antioxidant Status, and Disease Resistance of Nile Tilapia, Oreochromis niloticus. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 567, 2021.

FERREIRA, A. H. C., LOPES, J. B., ARARIPE, M. DE N. B. A., MONTEIRO, C. A. B., ANDRADE, F. T. Probiotic addition effect assessment in the diet of fingerling and juvenile Nile tilapia (Oreochromis niloticus) created in treated sewage. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, p. 665-674, 2018.

FERREIRA, A. L., AMORIM, M. P. S., SOUZA, E. R., SCHORER, M., CASTRO, G. H. F., & PEDREIRA, M. M. Probiotic, antibiotic and combinations in Nile tilapia juveniles culture. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.

FURUYA, W. M., PEZZATO, L. E., BARROS, M. M., BOSCOLO, W. R., CYRINO, J. E. P., FURUYA, V. R. B., & FEIDEN, A. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**, 2010.

HAMDAN, A. M.; EL-SAYED, A. F. M.; MAHMOUD, M. M. Effects of a novel marine probiotic, Lactobacillus plantarum AH 78, on growth performance and immune response of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). **Journal of applied microbiology**, v. 120, n. 4, p. 1061-1073, 2016.

HAYASHI, C., BOSCOLO, W. R., SOARES, C. M., BOSCOLO, V. R., & GALDIOLI, E. M. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 21, p. 733-737, 1999.

HISANO, H.; S., MAELI, D. P.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. **Acta Scentiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 4, p. 311-318, 2006.

HISANO, H.; SAMPAIO, F. G.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Composição nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e da parede celular pela tilápia-do-Nilo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 43-49, 2008.

HUYNH, T. G., SHIU, Y. L., NGUYEN, T. P., TRUONG, Q. P., CHEN, J. C., LIU, C. H. Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: a review. **Fish & shellfish immunology**, v. 64, p. 367-382, 2017.

JUNQUEIRA, O. M. Resultados de pesquisa com aditivos alimentares no Brasil. **In.: XLII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia,** 2005, Goiânia. Anais. Goiânia: SBZ, 2005. p. 169-182

MARENGONI, N. G., MACHADO, L. M. C., DE OLIVEIRA, C. A. L., YOSHIDA, G. M., KUNITA, N. M., & RIBEIRO, R. P. Morphological traits and growth performance of monosex male tilapia GIFT strain and Saint Peter®. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 5, p. 3399-3409, 2015.

MELO, C. C. V., DA COSTA, D. V., GONÇALVES, A. C. S., LEIRA, M. H., BOTELHO, H. A., DA CRUZ OLIVEIRA, K. K., DE FREITAS, R. T. F. Desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo em linhagens de tilápia do Nilo Oreochromis niloticus. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 72-82, 2016.

OZÓRIO, R. O. A., PORTZ, L., BORGHESI, R., & CYRINO, J. E. P. Effects of dietary yeast (*Saccharomyces cerevisie*) supplementation in practical diets of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Animals**, v. 2, n. 1, p. 16-24, 2012.

PEIXE BR. Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixes BR 2022. Associação Brasileira da Piscicultura, https://www.peixebr.com.br/ anuario-2022.

PINPIMAI, K., RODKHUM, C., CHANSUE, N., KATAGIRI, T., MAITA, M., & PIRARAT, N. The study on the candidate probiotic properties of encapsulated yeast, Saccharomyces cerevisiae JCM 7255, in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Research in Veterinary Science**, v. 102, p. 103-111, 2015.

RASUL, M.G.; MAJUMDAR, B.C. Abuse of Antibiotics in Aquaculture and its Effects on Human, **Aquatic Animal, and Environment. Saudi J. Life Sci.** 2017, 10, 21276

RINGØ, E.; SONG, S. K. Application of dietary supplements (synbiotics and probiotics in combination with plant products and β-glucans) in aquaculture. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 4-24, 2016.

SCHWARZ, K. K., FURUYA, W. M., NATALI, M. R. M., MICHELATO, M., & GUALDEZI, M. C. Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 32, n. 2, p. 197-203, 2010.

SCHWARZ, K. K., RAMOS, A. C., SCHLOTTAG, B. B., LUZ, M. N. M., DA ROCHA, T. A. R., & DA SILVA, C. H. Probiótico, prebiótico e simbiótico na nutrição de alevinos de tilápia do Nilo Oreochromis niloticus. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 2, 2016.

VIDAL, L. V. O., ALBINATI, R. C. B., ALBINATI, A. C. L., LIRA, A. D. D., ALMEIDA, T. R. D., & SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1069-1074, 2008.

# CAPÍTULO 3

# BOAS PRÁTICAS NA PRODUÇÃO DE LEITE EM PROPRIEDADES DE SATUBINHA – MA

*Data de submissão: 28/11/2023* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Antonia Mirelly de Araújo Brito Silva**
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
São Luís, Maranhão
http://lattes.cnpq.br/2024749767404464

**Lenka de Morais Lacerda**
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
São Luís, Maranhão
http://lattes.cnpq.br/4499976656869163

**Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário**
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)
São Luís, Maranhão
http://lattes.cnpq.br/8929786232927576

**RESUMO:** O leite, sem outras especificações, é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, é um alimento que apresenta um excelente valor nutritivo. Esse estudo teve como objetivo conscientizar os produtores de pequenas propriedades leiteiras no município de Satubinha, Maranhão, sobre a implantação das boas práticas nesse sistema de produção. O estudo foi realizado na zona rural de Juçaral em dez propriedades produtoras de leite de vaca. Para tanto, foram realizadas ações de orientação junto aos produtores sobre as boas práticas de manejo nesse sistema de produção. E para que os produtores visualizassem o problema, foram coletadas amostras de água utilizadas no manejo de ordenha, para realização de análises microbiológicas e físico-químicas, bem como amostras de leite, para análises físico-químicas, pesquisa de antimicrobiano beta-lactâmicos e gentamicina, Contagem de Células Somáticas (CCS) e pesquisa de fraudes e adulterantes no leite. Foi observado que todas as amostras de água coletadas nas propriedades, apresentavam- se em desacordo com o anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5/2017 do Ministério da Saúde. E que as análises físico-químicas do leite demonstraram alterações, principalmente na crioscopia, densidade e acidez, assim como presença de resíduos de antibióticos e altas contagens de células somáticas. Dessa forma os produtores participantes desse estudo puderam visualizar as falhas no manejo de seu sistema de produção para uma implantação de forma consciente das ações de boas

práticas, nas quais foram orientados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Qualidade. Saúde Pública. Higiene.

## GOOD PRACTICES IN MILK PRODUCTION ON PROPERTIES IN SATUBINHA – MA

**ABSTRACT:** Milk, without further specification, is the product of complete and uninterrupted milking, under hygienic conditions, of healthy, well-fed and rested cows, and is a foodstuff with excellent nutritional value. The aim of this study was to raise awareness among producers of small dairy farms in the municipality of Satubinha, Maranhão, about the implementation of good practices in this production system. The study was carried out in the rural area of Juçaral on ten properties that produce cow's milk. To this end, producers were given guidance on good management practices in this production system. So that the producers could see the problem, water samples used in milking were collected for microbiological and physical-chemical analysis, as well as milk samples for physical-chemical analysis, testing for beta-lactam antimicrobials and gentamicin, Somatic Cell Count (SCC) and testing for fraud and adulterants in the milk. It was observed that all the water samples collected on the properties were in disagreement with Annex XX of Consolidation Ordinance Nº. 5/2017 of the Ministry of Health. The physicochemical analysis of the milk showed alterations, especially in cryoscopy, density and acidity, as well as the presence of antibiotic residues and high somatic cell counts. In this way, the producers who took part in this study were able to see the flaws in the management of their production system so that they could consciously implement the good practice actions they were instructed to follow.

**KEYWORDS:** Quality. Public health. Hygiene.

## 1 I INTRODUÇÃO

O leite é um dos produtos de origem animal mais consumidos no mundo e possui grande importância socioeconômica no cenário agrícola nacional (SILVA *et al.*, 2019). É definido o leite de boa qualidade, aquele que é altamente nutritivo, tem sabor agradável, ausência de microrganismos patogênicos e contaminantes como antibióticos, pesticidas, adição de água e sujidades, mínima contagem de células somáticas, sanidade do rebanho, limpeza dos equipamentos e utensílios, a higienização do local da obtenção do leite, o ordenhador e também a qualidade da água que é utilizada na propriedade, podendo transmitir doenças tanto para humanos quanto para animais, devem ser observadas afim de evitar estes contratempos (BARROS, 2019).

A qualidade do leite consumido pela população brasileira é uma grande preocupação das autoridades da área de saúde. A Instrução Normativa nº 76/2018 e o RIISPOA – Regulamento Industrial de Inspeção de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2020), proíbem qualquer tipo de fraude ou adulteração no leite. As fraudes podem ser divididas em dois grupos. Sendo o primeiro grupo relativo as fraudes de caráter econômico, que se caracteriza pela adição de substâncias que aumentem o volume do leite, mas que não

causem mal à saúde (FOOD SAFETY, 2016).

A avaliação da qualidade físico-química do leite *in natura* é fundamental para assegurar o seu consumo pela população e o aproveitamento como matéria-prima de seus derivados. As maiores preocupações estão relacionadas ao estado de conservação e a sua integridade físico-química, principalmente aquela relacionada à adição ou remoção de substâncias químicas próprias ou estranhas à sua composição (SANTOS FILHO *et al.,* 2016).

A maioria das doenças transmitidas pela água é causada por microrganismos presentes em reservatórios de água, a contaminação dos mesmos por fezes humanas ou de animais. A forma mais comum de contaminação é através da ingestão, seja diretamente bebendo água contaminada ou pelo consumo de alimentos lavados com água infectada (SILVEIRA; LIMA; RODRIGUES, 2019).

A qualidade microbiológica é um dos principais indicadores da qualidade da água utilizada na propriedade leiteira. A utilização de água de má qualidade microbiológica pode contaminar equipamentos de ordenha e de resfriamento, e comprometer a qualidade do leite (GIEHL *et al.*, 2020).

A falta de potabilidade da água das propriedades leiteiras é devido à disposição inadequada de resíduos orgânicos oriundos da atividade humana e animal, aliado à ausência de limpeza das caixas d'água e de tratamento químico da água, bem como pelo desconhecimento do produtor rural em relação aos riscos à saúde decorrente do uso e do consumo de águas contaminadas, principalmente na rotina de ordenha (PIORSKI, 2021).

Esse estudo teve como objetivo conscientizar os produtores de pequenas propriedades leiteiras no município de Satubinha, Maranhão, sobre a implantação das boas práticas nesse sistema de produção, bem como avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da água utilizada nas propriedades e a qualidade físico-química, pesquisa de fraudes, resíduo de antibiótico e CCS (Contagem de Células Somáticas) no leite.

## 2 I METODOLOGIA

Foram realizadas visitas em 10 pequenas propriedades produtoras de leite de vaca no município Satubinha, Maranhão. Em seguida, aplicados questionários aos produtores, para obtenção de informações sobre os aspecto socioeconômicos, produção diária de leite, número de animais em lactação, utilização de pré e pós-*dipping*, sistema de produção, destino do leite produzido, raças de bovinos criadas, alimentação, sanidade dos animais, prevenção e diagnóstico de mastite, qualidade do leite e se utilizam antibióticos nos animais em lactação.

Foram realizadas práticas de extensão, com capacitação de boas práticas no manejo higiênico de ordenha, pré e pós *dipping* e teste de mastite (teste da caneca de fundo preto e California Mastite Test - CMT), visando à redução da doença no rebanho.

Como forma de incentivo foram distribuídos aos produtores Kit Ordenha (peneira de malha fina, mangueira de 2 metros acoplada a um balde de 20 litros, toalhas descartáveis, copo de imersão com iodo e glicerina (iodo glicerinado), raquete para CMT, reagente para CMT, caneca de fundo escuro, seringa de 10 mL e 2 mL). Além da capacitação sobre o uso dos kit de ordenha.

Para a visualização do problema pelos produtores foram coletadas 3 amostras de 1000 mL cada, de leite por propriedade, obtidas de um *pool* homogeneizado, em frascos estéreis, identificados, acondicionados e transportados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável. Encaminhadas ao Laboratório de Tecnologia de alimentos do Curso de Medicina Veterinária da UEMA para posterior análises.

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas do leite: Alizarol, acidez, crioscopia, percentual de gordura, densidade a 15°C, Sólidos Totais (ST) e Sólidos Desengordurado (SD), pesquisa de enzimas fosfatase e peroxidas) e fraudes e adulterantes (glicose, maltodextrina e neutralizantes no leite). Foi verificado ainda a presença de resíduos de antibióticos no leite, pelo método rápido Eclipse 50 (CAP LAB) e a contagem de células somáticas (CCS) através do método rápido Somaticell SCC Test (IDEXX).

Foram coletadas ainda 1 amostra de 1000 mL cada, de água obtidas do local de ordenha de cada propriedade para realização de análises microbiológicas em frascos estéreis, identificados e encaminhados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável ao Laboratório de Microbiologia e Água do Curso de Medicina Veterinária da UEMA. Foi realizada pesquisa de Coliforme total e *Escherichia coli*, pelo Método Rápido Colilert. As análises físico-químicas da água realizadas foram: cloretos, dureza, alcalinidade em HCO3, alcalinidade total, cloretos, pH, turbidez e processadas de acordo com o preconizado pelo Manual Prático de Análise de Água da Funasa (BRASIL, 2013).

O resultado de cada parâmetro da água analisado foi comparado ao valor máximo permitido estabelecido (VMP) de acordo com o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5 de 03/10/2017, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017).

Os resultados obtidos nos questionários foram tabulados e analisados por meio da estatística descritiva.

## 3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados dos questionários aplicados junto aos produtores de leite do Município de Satubinha - MA, foi verificado que a origem da água utilizada na ordenha, provem de poço artesiano ou da Companhia de Água e Esgoto do Maranhão, porém nenhuma propriedade realizava o tratamento da água com o cloro.

Dessa forma foi confirmada a presença de Coliformes totais e *E. coli* em todas as amostras de água analisada, com contagens variando de 165 a >2419,6 NMP/mL para Coliformes a 35ºC e <1 a 178,9 NMP/mL para *E. coli*, estando em desacordo com o anexo

XX da Portaria de Consolidação nº 5/2017 do Ministério da Saúde, que preconiza que a água deve ter ausência de coliformes total e *E. coli* (BRASIL, 2017).

Em relação às análises físico-químicas da água, 100% das amostras estavam dentro dos parâmetros normais de pH, cloretos, dureza, turbidez e alcalinidade.

A qualidade microbiológica da água utilizada no processo de higienização de equipamentos de ordenha afeta a qualidade do leite. Isso ocorre devido ao aumento da presença de microrganismos na água dificultando a execução dos procedimentos de higienização dos utensílios empregados na ordenha (RANGEL, 2015).

A falta de potabilidade da água das propriedades leiteiras ocorre devido à disposição inadequada de resíduos orgânicos oriundos da atividade humana e animal, aliado à ausência de limpeza das caixas d'água e de tratamento químico da água, bem como pelo desconhecimento do produtor rural em relação aos riscos à saúde decorrente do uso e do consumo de águas contaminadas, principalmente na rotina de ordenha (CUNHA; PINHEIRO; SCHULZ, 2011).

A produção diária de leite nas propriedades variava de 10 a 60 litros de leite, com 3 a 20 vacas em lactação, e os animais eram vacinados, principalmente para aftosa e brucelose.

Em relação às análises físico-químicas do leite verificou-se alterações de acidez em 10% (1) das amostras de leite analisadas. Foi observada alteração nos sólidos totais e desengordurados em 20% das amostras avaliadas, o que pode ser devido a prática de desnate ou aguagem no leite (Tabela 1).

| Propriedade | Alizarol | Acidez **ºD** | SD g/mL | ST g/mL |
|---|---|---|---|---|
| 1 | - | 18 | 8,31 | 11,31 |
| 2 | - | 14 | 8,81 | 11,62 |
| 3 | - | 10 | 8,96 | 11,86 |
| 4 | - | 14 | 8,96 | 11,96 |
| 5 | - | 15 | 8,83 | 11,83 |
| 6 | - | 20 | 8,46 | 11,46 |
| 7 | - | 14 | 8,49 | 11,51 |
| 8 | - | 14 | 8,66 | 11,66 |
| 9 | - | 13 | 8,40 | 11,41 |
| 10 | - | 18 | 8,04 | 11,04 |

Tabela 1. Resultados das análises de Alizarol, Acidez, Sólidos Desengordurados e Sólidos Totais do leite das propriedades de Satubinha – MA.

**Fonte:** Autor

A qualidade físico-química do leite *in natura* é fundamental para assegurar seu consumo pela população e seu aproveitamento como matéria-prima de seus derivados. As maiores preocupações estão associadas ao estado de conservação e a sua integridade físico-química, principalmente àquela relacionada à adição ou remoção de substâncias químicas próprias ou estranhas a sua composição (BRASIL, 2020).

Todas as amostras estavam de acordo com a legislação em relação à porcentagem de gordura, porém Souza *et al.* (2018) em um estudo avaliando os parâmetros físico-químicos do leite *in natura* comercializado informalmente no município de Imperatriz - MA, encontraram que, das 20 amostras analisadas, quatro obtiveram resultados inferiores que 3% de gordura.

Um percentual de 90% das amostras de leite apresentaram alteração no índice crioscópico, comprovando adição de água nas amostras de leite analisadas, o que caracteriza fraude por aguagem. Somente uma das amostras apresentou-se de acordo com a legislação para a crioscopia (Tabela 2). Os resultados da densidade das amostras de leite estavam dentro dos parâmetros de acordo com o RIISPOA (BRASIL, 2020).

| Propriedade | Gordura | Crioscopia **ºH** | Densidade a 15ºC g/mL |
|---|---|---|---|
| 1 | 3 | -0,607 | 1,0298 |
| 2 | 3,1 | -0,573 | 1,0310 |
| 3 | 3 | -0,586 | 1,0320 |
| 4 | 3 | -0,581 | 1,0324 |
| 5 | 3 | -0,580 | 1,0318 |
| 6 | 3 | -0,651 | 1,0304 |
| 7 | 3,2 | -0,560 | 1,0306 |
| 8 | 3 | -0,578 | 1,0312 |
| 9 | 3,1 | -0,574 | 1,0302 |
| 10 | 3 | -0,524 | 1,0287 |

Tabela 2. Resultados das análises de Gordura, Crioscopia e Densidade do leite de propriedades leiteiras de Satubinha – MA.

**Fonte:** Autor

O índice crioscópico é uma propriedade físico-química que define a temperatura de congelamento das substâncias. No caso do leite, esta propriedade é usada para identificar a adulteração pela adição de água. A temperatura de congelamento do leite (índice crioscópico) é relativa à concentração dos componentes que formam o extrato seco. Por isso, o índice crioscópico do leite é inferior ao da água pura, que é 0 °C. O leite de composição normal, não adulterado, possui índice crioscópico entre -0,512 °C e -0,531 °C e a adição de água faz com que o índice crioscópico se aproxime da temperatura de congelamento da água pura (SILVA, 2020).

O resultado das análises crioscópicas divergem de um estudo realizado por De Mendonça *et al*. (2009), analisando a qualidade físico-química de amostras de leite cru comercializado informalmente no norte do Paraná, onde nove (45%) das 20 amostras analisadas, apresentaram índice crioscópico abaixo de -0,530ºH, ou seja, presença de água ao leite.

As análises de Contagem de Células Somáticas (CCS) apresentaram-se foram dos padrões em 70% das amostras analisadas, o que pode caracterizar inflamação da glândula mamária (mastite) nos animais (Tabela 3).

| Propriedade | CCS céls/mL | Resíduo de Antibióticos | Fosfatase e Peroxidase |
|---|---|---|---|
| 1 | 520.000 | + | + |
| 2 | 760.000 | - | + |
| 3 | 700.000 | + | + |
| 4 | 79.000 | - | + |
| 5 | 1308.000 | + | + |
| 6 | 98.000 | + | + |
| 7 | Acima de 1970.000 | + | + |
| 8 | 7.000 | - | + |
| 9 | 1208.000 | - | + |
| 10 | 700.000 | + | + |

Tabela 3. Resultados das análises de Contagem de Células Somáticas, Resíduos de antibióticos e Fosfatase e Peroxidase no leite de propriedades leiteiras de Satubinha – MA.

**Fonte:** Autor

A Contagem de Células Somáticas no leite é uma preocupação mundial e valores elevados da CCS se devem à inflamação da glândula mamária, resultando no aumento do número de células somáticas no leite (ARCURI *et al.,* 2006). Observou-se no presente trabalho que 70% das amostras de leite apresentavam CCS acima do permitido pelo RIISPOA (BRASIL, 2020), resultados semelhantes foram verificados por Da Trindade *et al.*, (2018) avaliando a qualidade do leite cru comercializado no município de Rio Pomba - MG, observaram que, 3 das 5 amostras analisadas apresentaram valores acima do permitido.

Para as análises de fosfatase e peroxidase todas as amostras se mostraram em conformidade com o estabelecido pelo RIISPOA (BRASIL, 2020).

A presença de resíduos de antibióticos no leite é um problema de saúde pública, foram verificados resíduos em 60% amostras avaliadas (Tabela 3).

O leite com presença de antibiótico é considerado impróprio para o consumo, representando riscos para a saúde, além da possibilidade de interferência nos processos tecnológicos de produção (FREITAS *et al.*, 2020). A legislação brasileira regulamenta que os resíduos de antibióticos e outros agentes inibidores de crescimento microbiano devem

estar ausentes (VIEIRA *et al.,* 2012).

Não foram observadas fraudes por neutralizantes da acidez, peróxido de hidrogênio, ureia e adulterantes como maltodextrina e glicose, provavelmente por ser um leite de produção de subsistência, oriundo de pequenas propriedades, com produção entre 10 a 80 litros de leite por dia.

Observou-se falta de estrutura no local de ordenha, nenhuma das propriedades visitadas possuíam sala de ordenha, e realizavam a ordenha dos animais em local sem cobertura e sem piso de concreto, ou seja, terra batida. Um dos proprietários ainda relatou ausência de um local definido para a ordenha. No inverno, esses locais acumulam lama o que prejudica o controle da mastite nas vacas em lactação.

Foi relatado por todos os produtores de leite, que não realizavam pré e pós-*dipping* (higienização dos tetos das vacas antes e após a ordenha), não utilizavam papel toalha para secagem dos tetos, faziam ordenha manual e afirmavam lavar as instalações diariamente com água e sabão. Porém a falta do manejo adequado pode ter gerado problemas em relação à qualidade do leite produzido.

Todos os proprietários relataram que não possuem assistência médico-veterinária, dificultando o diagnóstico de doenças e consequentemente sua prevenção.

## 4 | CONCLUSÃO

É necessária assistência médico-veterinária contínua nas propriedades rurais do povoado de Juçaral no município de Satubinha, Maranhão. Pois foram observadas práticas inadequadas de manejo, podendo ocasionar sérios problemas tanto para o sistema de produção quanto para a saúde do consumidor de leite das propriedades deste município.

A criação da Associação de produtores rurais ou cooperativas, seria uma alternativa para uma melhor assistência a esses produtores, objetivando uma melhoria na qualidade do leite, possibilitando assim, a instalação de agroindústrias nessa região e o aumento da produção de leite e derivados, oportunizando o agronegócio e a geração de empregos à população rural.

## REFERÊNCIAS


ARCURI, E. F. *et al.* Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq Bras de Medic Vet e Zootec**, Belo Horizonte, v.58, n.3, p.440-446, 2006.

BARROS, E. M. P. **Qualidade físico-química e microbiológica da água de propriedades leiteiras da Ilha de São Luís – MA**. 2019. 43 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Prático de Análise de Água.** Fundação Nacional de Saúde, v. 4 Ed. Edição, p. 150, 2013.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020**. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Disponível em: https://www.in.gov.br/web/dou/-/decreto-n-10.468-de-18-de-agosto-de-2020-272981604. Acesso em 10 setembro. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria de Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017**. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do SUS. Anexo XX. Do controle e da Vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: http://www.mapa.gov.br. Acesso em: 20 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2018**. Manual de procedimentos para Laboratórios – Área: Microbiologia e Físico-Química de produtos de Origem Animal. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/29896222/do1-2018-07-13-instrucao-normativa-n-30-de-26-de-junho-de-2018-29896212. Acesso em: 28 de agosto de 2023.

CUNHA, A. C.; PINHEIRO, L. A. R.; SCHULZ, H. E. Simulação da hidrodinâmica e dispersão de poluentes com monitoramento virtual no Rio Matapi - Ap. **Revista de Estudos Ambientais**, Blumenal, v. 13, n. 2, p. 18–32, 2011.

DA TRINDADE, L. C. A*. et al*. Qualidade de leire cru comercializado no Município de Rio Pomba - MG. **Revista Higiene Alimentar***,* São Paulo, v. 32, n. 284/285, p. 72, 2018.

DE MENDONÇA, M. B. O. C. *et al*. Qualidade físico-química de Amostras de Leite Cru Comercializadas Informalmente no Norte do Paraná. **UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde**, Londrina, v. 11, n. 4, p. 47-50, 2009.

FOOD SAFETY. **Fraude do leite: aspectos a serem considerados**. 2016. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/fraude-do-leite-aspectos-serem-considerados>. Acesso em 10 setembro. 2023.

FREITAS, R.M. *et al*. Análise microbiológica e de resíduos antimicrobianos presentes em leite Tipo C comercializados na cidade de Goiânia-Goiás-Brasil. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 6, p. 34605 - 34615, 2020.

GIEHL, D. Z. *et al*. Qualidade da água utilizada na atividade leiteira do município de Dom Pedrito/RS. **In**: ANAIS DO SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 3., 2020, Bagé. Anais...Bagé: Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2020.

PIROSKY, K. A. A. F. **Avaliação quali-quantitativa da água de múltiplos usos em abatedouros de São Luís – MA**. 2021. 51 p. Trabalho de conclusão do curso (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2021.

RANGEL, A. N. *et al*. Qualidade microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 1, p. 9-16, 2015.

SANTOS FILHO, W. L. G. *et al*. Características físico-químicas do leite cru comercializado de maneira informal em Redenção, PA. **Tecnol & Ciên. Agropec.***,* João Pessoa, v. 10, n. 5, p. 29-34, 2016.

SILVA, B. P. *et al*. Caracterização da produção e qualidade do leite em propriedades de agricultura familiar na região sul do Rio Grande do Sul. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 74, n. 4, p. 231-239, 2019.

SILVA, A. L. **Avaliação da Qualidade Físico-química de diferentes marcas de leite Ultra High Temperature.** Trabalho de conclusão do curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos). Instituto Federal Goiano, Campos Mourinho, 2020.

SILVEIRA, E. C.; LIMA, F. V. M.; RODRIGUES, F. D. L. Doenças transmissíveis pela contaminação da água e como tratá-las. **In**: MOSTRA INTERDISCIPLINAR DO CURSO DE ENFERMAGEM. Anais... Quixadá: Centro Universitário Católica de Quixadá, 2019. p. 10-11.

SOUZA, J. V. *et al*. Avaliação dos parâmetros físico-químicos do leite "in natura" comercializado informalmente no município de Imperatriz – MA. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS), Viçosa, v.8, n.4, p. 1 -6, 2018.

VIEIRA, T. S. W. J. *et al*. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 791-796, 2012.

# CAPÍTULO 4

# FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Cordyceps javanica* EM FORMIGAS DO GÊNERO *Solenopsis*

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Otávio Venâncio figueredo**

**Jael Simões santos rando**

**Millena dos santos Rodrigues**

**Julia Santos da Silva**
https://lattes.cnpq.br/4055994981722939

**Gabriely Eduarda Pereira**

**Anabelle Cristina martins**

**RESUMO:** O uso de fungos entomopatogênicos apresenta vantagens em relação a outras formas de controle microbiano, pois infectam seus hospedeiros em todas as fases de desenvolvimento e penetram nos insetos através do tegumento. Ainda são poucos os estudos relacionados ao uso desses fungos no controle de formigas, especialmente do gênero *Solenopsis*, conhecidas popularmente como formigas lava-pés ou formigas de fogo. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do fungo entomopatogênico *Cordyceps javanica* em formulação comercial no controle de formigas *Solenopsis*. Para isso, foram escolhidos ninhos presentes na Fazenda Experiental do *Campus* Luiz Meneghel, que receberam os tratamentos: água destilada (testemunha negativa); doses de 5 g; 10 g; 15 g e 20 g do inseticida microbiológico a base do fungo *C. javanica* e inseticida lambda-cialotrina (testemunha positiva). Foram feitas duas aplicações, com intervalo de 24 h. Após 48 h, foram retirados 250 g de solo e formigas de cada ninho e mantidos em condições controladas por 20 dias. Diariamente, foram avaliadas porções de aproximadamente 20 g por tratamento acondicionadas em placas de Petri. O tratamento com inseticida químico apresentou alta mortalidade a partir da primeira avaliação. O tratamento com dose de 20 g do fungo resultou na lentidão e desorientação dos movimentos de algumas operárias. Apesar da ocorrência de algumas formigas com estruturas de fungo, não foi possível verificar a formação de ascomas e ascósporos. O fungo *C. javanica* requer maior investigação para a determinação de sua virulência e viabilidade como agente biológico no controle de formigas do gênero *Solenopsis*.

**PALAVRAS-CHAVE:** controle biológico; formigas lava-pés; Formicidae.

## ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Cordyceps javanica* IN ANTS OF THE GENUS *Solenopsis*

**ABSTRACT:** The use of entomopathogenic fungi has advantages over other forms of microbial control, as they infect their hosts at all stages of development and penetrate insects through the integument. There are still few studies related to the use of these fungi to control ants, especially those of the *Solenopsis* genus, popularly known as fire ants. Thus, the present paper aimed to evaluate the potential of the entomopathogenic fungus *Cordyceps javanica* in a commercial formulation to control *Solenopsis* ants. For this, nests located at the Experimental Farm of the Luiz Meneghel Campus were chosen, which received the following treatments: distilled water (negative control); doses of 5 g; 10 g; 15 g and 20 g of microbiological insecticide based on the fungus *C. javanica* and lambda-cyhalothrin insecticide (positive control). Two applications were made, 24 hours apart. After 48 hours, 250 g of soil and ants were removed from each nest and reserved under controlled conditions for 20 days. Daily, portions of approximately 20 g were evaluated per treatment, conditioned in Petri dishes. Treatment with chemical insecticide showed high mortality from the first evaluation. Treatment with a dose of 20 g of the fungus resulted in slowness and disorientation in the movements of some workers. Despite the occurrence of some ants with fungal structures, it was not possible to verify the formation of ascomas and ascospores. The fungus *C. javanica* requires further investigation to determine its virulence and viability as a biological agent in the control of ants of the genus *Solenopsis*.

**KEYWORDS:** biological control; fire ants; Formicidae.

## 1 I INTRODUÇÃO

Com origem na América do Sul, o gênero *Solenopsis* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) compreende as formigas conhecidas por lava-pés ou formiga de fogo, devido a dor causada por suas ferroadas (DREES et al.,2013; SUGUITURU, et al., 2015). Esse gênero possui 196 espécies, além de 22 subespécies (BOLTON, 2021) amplamente distribuídas. Das 101 espécies com ocorrência na região Neotropical, 43 são encontradas no Brasil.

Na América do Sul, *Solenopsis saevissima* Smith e *Solenopsis invicta* Buren são as formigas de fogo mais comuns (PITTS et al., 2018), sendo encontradas em áreas rurais e urbanas (RAMALHO et al., 2022). *S. invicta* está entre as 100 piores invasoras do mundo (LOWE et al., 2000). Por serem mais frequentes, essas espécies destacam-se como uma das principais ameaças à diversidade biológica, à segurança pública, à agricultura e à economia (LIU et al., 2020).

Controlar espécies invasoras como as do gênero *Solenopsis* é uma preocupação mundial, e embora os inseticidas tradicionais sejam bastante eficazes no controle das populações dessas formigas, estes devem ser aplicados regularmente para manter as áreas livres de reinfestação (DREES et al., 2013), processo inadequado para locais ecologicamente sensíveis. Portanto, é amplamente aceito que o controle sustentável de

*Solenopsis* dependerá de agentes biológicos (PORTER et al., 1992, BRIANO et al., 2012).

Os fungos entomopatogênicos se destacam no controle microbiano por estarem presente em grande número em diversos ambientes e superfícies, com a possibilidade de causar epizootias naturais. São capazes de infectar seus hospedeiros em todas as fases de desenvolvimento (SANTOS et al., 2018), característica desejável e muito peculiar deste grupo. Também apresentam a capacidade de penetrar em seu hospedeiro via tegumento, o que lhe confere vantagem sobre outros organismos, que precisam penetrar via oral (QU; WANG, 2018). No Brasil, embora existam literaturas que demonstrem a utilização de fungos entomopatogênicos para o controle de formigas, a maioria diz respeito às formigas cortadeiras de folhas, e poucas são as informações sobre o efeito desses fungos no controle de formigas lava-pés (PEREIRA; STIMAC, 1992).

Os primeiros fungos entomopatogênicos conhecidos foram os do gênero *Cordyceps,* provavelmente devido a evidência do estroma em forma de clava, as vezes colorido e comumente maior que seu hospedeiro. Uma das primeiras espécies descritas foi a *Cordyceps sinensis* em 1726 (AZEVEDO, 1998). Em 1958, Van Pelt observou a infecção por *Cordyceps unilateralis*, seguida de morte em três dias e aparecimento de estroma em dois dias em *Camponotus pensylvanicus*. Entretanto, os trabalhos com controle de formigas, em sua maioria, relatam a eficiência de fungos do gênero *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*.

Os trabalhos referentes tanto a controle biológico quanto à presença de entomopatógenos isolados de colônias de formigas invasoras estão concentrados no gênero *Solenopsi*s, uma vez que essa formiga é uma séria praga nos Estados Unidos, e as pesquisas referem-se a esse país na maioria das vezes. Mesmo assim, os esforços para esse tipo de controle alternativo ao químico ainda não são conclusivos e efetivos (ZARZUELA, 2010).

Fungos entomopatogênicos constituem-se em agentes potenciais de controle de insetos, para suprir a demanda existente de estratégias sustentáveis mais eficientes. Em vista do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de doses do fungo *Cordyceps javanica* no controle biológico de formigas S*olenopsis* spp.

## 2 I MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Campus Luiz Meneghel da Universidade Estadual do Norte do Paraná, na cidade de Bandeirantes, Paraná. Em área de pastagem, foram selecionados seis ninhos de formigas do gênero *Solenopsis*, com tamanhos variados. Cada ninho correspondeu a um tratamento, definidos da seguinte forma: T1 água destilada (testemunha negativa); T2; T3; T4; T5 (doses de 5; 10; 15 e 20 g), respectivamente, do inseticida microbiológico a base do fungo *Cordyceps* (*Isaria*) *javanica*, produto comercial Lalguard Java WP isolado BRM 27666 e T6 inseticida lambda-cialotrina (testemunha

positiva).

A aplicação ocorreu às 16h, pulverizando-se os tratamentos sobre os montículos de terra e vertendo-se o restante das diluições no interior dos ninhos nos quatro quadrantes, em orifícios feitos com haste de madeira. Após 24 h, repetiu-se o procedimento, e depois de 48 h fez-se a retirada em cada ninho de 250 g do solo e formigas, colocando-se em recipientes tampados e identificados de acordo com seu tratamento, permanecendo em câmara climatizada com temperatura de 25 °C e umidade relativa de 70% durante 20 dias. Nas avaliações, diariamente eram retiradas dos recipientes porções com cerca de 20 g/ tratamento, e colocadas em placas de Petri com as bordas besuntadas com óleo de soja, a fim de impedir a fuga das formigas.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, apenas o tratamento com inseticida químico apresentou mortalidade alta já na primeira avaliação. Quanto aos tratamentos com fungo, nas avaliações subsequentes as formigas mostraram-se muito ativas, comportamento mantido até o término do trabalho.

Decorridas cinco avaliações, observou-se que no tratamento com dose de 20 g do fungo algumas operárias apresentavam lentidão e desorientação dos movimentos, destacando-se entre a grande quantidade de formigas tentando sair das placas de Petri. Na nona avaliação do mesmo tratamento, foram observadas algumas formigas com estruturas de fungo, entretanto não foi possível verificar a formação de ascomas e ascósporos.

O fato de as formigas não terem sido isoladas da terra dos ninhos pode ter comprometido a ação dos fungos. O solo não influencia a suscetibilidade das formigas ao patógeno, mas age como uma barreira física na disseminação dos propágulos de fungos (PEREIRA; STIMAC, 1992).

Além disso, mesmo que algumas formigas sejam infectadas por entomopatógenos presentes nos solos de seus ninhos, o comportamento de limpeza que apresentam podem reduzir o crescimento dos fungos nos cadáveres daquelas que foram infectadas. Essa limitação de crescimento é feita pela adição de substâncias químicas, como o veneno com compostos alcalóides, que possui uma ação fungistática (STOREY, 1990; STOREY et al., 1991). Quando o comportamento de limpeza remove os conídios ou outras partículas de fungo da cutícula das formigas antes que ocorra a infecção, consequentemente reduz a taxa de infecção de toda a colônia. Quando inoculadas com conídios de *B. bassiana, S. invicta* demonstraram a remoção de conídios dos tegumentos das formigas adultas e de larvas (SIEBENEICHER et al.,1992; OI; PEREIRA, 1993).

Deve-se considerar que, através de quimiorreceptores localizados nas antenas as formigas reconhecem o fungo como nocivo e o comportamento social pode ser alterado de forma a impedir a propagação de patógenos (QIU et al., 2016). Para se defenderem

contra eles, os insetos sociais desenvolveram uma série de defesas únicas contra doenças no nível da colônia, que consistem em adaptações comportamentais e fisiológicas. Estas defesas ao nível da colónia podem reduzir o risco de infecção e envenenamento e melhorar a sobrevivência dos membros da sociedade, sendo conhecidas como imunidade social (LIU et al., 2019).

## 4 I CONCLUSÃO

O fungo *Cordyceps javanica* requer maior investigação para determinar sua virulência e viabilidade como agente biológico no manejo de formigas *Solenopsis* spp.

## REFERÊNCIAS


AZEVEDO, J. L. Controle microbiano de insetos-pragas e seu melhoramento genético. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico.** Jaguariuna: EMBRAPA, 1998, cap. 2, p.69-96.

BOLTON, B. **An online catalog of the ants of the world, AntCat,** 2021. Disponível em: <http://www.antcat.org/>. Acesso em 03 jan. de 2024.

BRIANO, J.; CALCATERRA, L.; VARONE, L. Fire ants (*Solenopsis* spp.) and their natural enemies in Southern South America. **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2012, ID 19808419.

DREES, B. M.; CALIXTO, A. A.; NESTER, P. R. Integrated pest management concepts for red imported fire ants *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Insect Science**, v. 20, n. 4, p. 429-438, 2013.

LIU, H. K.; LIN, C.; HUANG, L.; HUANG, S.; HUANG, R. Eradiaction and control strategies for red imported fire ants (*Solenopsis invicta*) in Taiwan. **Sustainability**, v. 12, n. 10, 3951, 2020.

*LIU, L.; ZHAO, X. Y.; TANG, Q. B.; LEI, C. L.; HUANG, G. H.* The Mechanisms of Social Immunity Against Fungal Infections in Eusocial Insects. **Toxins**, *v. 11, n.* 5*,* 244, 2019.

LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S.; De POORTER, M. **100 of the World's Worst Invasive Alien Species A selection from the Global Invasive Species Database**. The Invasive Species Specialist Group (ISSG): Switzerland, 2000, 12 p.

OI, D. H.; PEREIRA, R. M. Ant behavour and microbial pathogens (Hymenoptera:Formicidae). **Florida Entomologist**, v. 76, n. 1, p.63-75, 1993.

PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L. Transmission of *Beauveria bassiana* within nests of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) in the laboratory. **Environmental Entomology**, v.21, p.1427-1432, 1992.

PITTS, J. P.; CAMACHO, G. P.; GOTZEK, D.; MCHUGH, J. V.; ROSS, K. G. (2018) Revision of the fire ants of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera: Formicidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 120, n. 2, p. 308-411, 2018.

PORTER, S. D. Frequency and distribution of polygyne fire ants (Hymenoptera, Formicidae) in Florida. **Florida Entomologist**, v. 75, p. 248-257, 1992.

QU, S.; WANG, S. Interaction of entomopathogenic fungi with the host immune system. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 83, p. 1-8, 2018.

RAMALHO, M. O.; MENINO, L.; SOUZA, R. F.; KAYANO, D. Y.; ALVES, J. M. C.; HARAGAVA, R.; NAGATAMI, V. H.; SILVA, O. G. M.; BUENO, O. C.; MORINI, M. S. C. Fire ants: what do rural and urban areas show us about occurrence,diversity and ancestral state reconstruction. **Genetics and Molecular Biology**, v. 45, n.1, 2022.

SANTOS dos, J. C. C.; SILVA, D. M. R.; SILVA, C. H.; COSTA, R. N.; AMORIM, D. J.; SILVA, L. K. S.; SANTOS, S. A.; ALVES, R. M. Desempenho de genótipos de feijoeiro cultivados em diferentes anos agrícolas. **Global Science and Technology**, v.11, n. 2, p.175-184, 2018.

SIEBENEICHER, S. R.; VINSON, S.B.; KENERLEY, C.M. Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of explosure. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 59, p. 280-285, 1992.

STOREY, G. K. **Chemical defenses of the fire ant, *Solenopsis invicta* Buren**, Tese de Doutorado, Clemson University, Clemson, SC., 1990.

STOREY,G. K.; VAANDER MEER, R. K.; BOUCIAS, D. G.; Mc COY, C.W. Effect of fire ants (*Solenopsis invicta*) venom alkaloids on the vitro germination and development of selected. **Journal of invertebrated pathology**, v. 58, p. 88-95, 1991.

SUGUITURU, S. S.; MORINI, M. S. C.; FEITOSA, R. M.; SILVA, R. R. **Formigas do Alto Tietê**. Bauru: Canal6, 2015. 456p.

VAN PELT, A. The occurence of a Cordyceps on the ant Camponotus pennsylvanicus (DeGeer) in the the Highlands, N. C. Region, **Journal of Tennesse Academy of Science**, v. 33, n. 2, p. 120-122, 1958.

ZARZUELA, M. F. M. **Isolamento de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras e sua aplicação para o controle**. Tese de Doutorado em Biociências, Instituto de Biocências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

# CAPÍTULO 5

# DESARROLLO DE APLICACIÓN MÓVIL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PINÁCEAS DE LA SIERRA DE ZONGOLICA, VERACRUZ

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Arturo Martín Morales Rayón**
Tecnológico Nacional de México (TecNM), Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, ITSZ

**Ricardo García Castro**
Tecnológico Nacional de México (TecNM), Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, ITSZ

**Martín Contreras de la Cruz**
Tecnológico Nacional de México (TecNM), Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, ITSZ

**Roberto Ruiz Castro**
Tecnológico Nacional de México (TecNM), Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, ITSZ

**RESUMEN**: Actualmente alumnos y sociedad en general se encuentran familiarizados con los diferentes dispositivos móviles. Hoy por hoy, en México y el mundo, el diseño de aplicaciones móviles es una de las tendencias dentro del sector del desarrollo, programación e implementación de las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TIC). Con la incorporación de las TIC en la educación, se ha hecho cada vez más frecuente poder desarrollar escenarios que apoyen los procesos de enseñanza y aprendizaje. En el presente artículo, se muestran los resultados del proyecto de diseño y desarrollo de una aplicación móvil implementada bajo la plataforma de Android para aquellas personas interesadas en el área forestal y su campo de estudio, generando una herramienta tecnológica con el propósito que la aplicación ayude a identificar las diferentes especies de pinos en la zona montañosa de la sierra de Zongolica ubicada en la zona centro del estado de Veracruz. Android es el sistema operativo de código abierto para dispositivos móviles y su núcleo está basado en el sistema Linux. Para el desarrollo de la aplicación móvil, se utilizó la metodología del modelo en cascada, también llamado ciclo de vida clásico. Se describe la metodología la cual está basada en el ciclo convencional de la Ingeniería de software, sugiere un enfoque sistemático, secuencial para el desarrollo de sistemas software que inicia con el establecimiento o definición de los requerimientos y continua con las fases de análisis, diseño, codificación, pruebas y mantenimiento. También, se utilizó el paradigma de la programación orientada a

objetos con lenguaje Java, por medio del entorno de desarrollo integrado Android Studio como herramienta principal. Con la aplicación móvil se facilita la identificación de las especies de pinos por medio de dos principales procesos: 1).- búsqueda guiada y 2).- búsqueda abierta. La aplicación móvil presenta una solución tecnológica la cual aportará diversos beneficios a los usuarios finales para el estudio de las especies de pinos.
**PALABRAS CLAVE:** Ingeniería de software, paradigma orientada a objetos, Java, Android Studio

## INTRODUCCIÓN

Las vertiginosas transformaciones económicas, sociales, políticas y culturales derivadas de las innovaciones tecnológicas de finales del siglo XX, lograron que hoy por hoy los sectores más dinámicos sean los de alta tecnología e intensivos en conocimiento, como las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones. Los avances en el ámbito de las tecnologías están transformando la sociedad, cada día son más comunes los dispositivos móviles en las aulas de clases y están transformando la vida de los alumnos (Dede, 2005).

En los últimos años en México y el mundo, la industria de las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TIC) han permitido transformar de manera significativa la forma de trabajar, comunicar, socializar y también de negociar (Pacheco, 2016).

Con el uso de las TIC, han permitido aumentar la productividad de diferentes sectores, mejorar los tiempos en los proceso y optimizar los recursos. Hoy en día el uso de la tecnología móvil ha incrementado de manera exponencial ya que su relación costo-beneficio ha traído buenos resultados para los usuarios finales que los operan.

Los modelos tradicionales en el proceso de enseñanza-aprendizaje están dejando de ser exclusivamente estáticos, a tener movilidad con el objetivo principal de que los actuales estudiantes tengan mayores recursos a su alcance lo que les permite desarrollar nuevas habilidades para la adquisición del conocimiento en los nuevos entornos de aprendizaje (UNESCO, 2005).

El desarrollo de software de cómputo móvil es complejo e inútil si no se tiene un objetivo a desarrollar, un cliente interesado para la revisión del funcionamiento y un avance de la aplicación. Para evitar lo anterior, dentro del proceso de la Ingeniería de software existe una etapa llamada análisis de requerimientos en la cual establece que inicia durante la actividad de comunicación y continúa en la de modelado. Debe adaptarse a las necesidades del proceso, del proyecto, del producto y de las personas que realizan el trabajo (Pressman, 2010).

En el presente trabajo de investigación se plantea el diseño y desarrollo de una aplicación móvil que identifique a especies de pinos mediante dos procesos el primero denominado búsqueda guiada y el segundo proceso búsqueda abierta. El desarrollo de esta aplicación se basa totalmente en documentación obtenida con base en la experiencia de los usuarios expertos en el manejo de especies forestales y estudios científicos de los

diferentes pinos de la zona montañosa de la sierra de Zongolica ubicada en la zona centro del estado de Veracruz.

El documento se estructura de la siguiente manera: en la siguiente sección se presenta una breve introducción a la adquisición de conocimientos por medio de los dispositivos móviles y al sistema operativo Android. Posteriormente, se presenta la sección de Ingeniería de Software. Se incluye la metodología, así como los materiales y se presenta la aplicación móvil. Finalmente, se presentan las conclusiones.

## ADQUISICIÓN DE CONOCIMIENTO MEDIANTE DISPOSITIVOS MÓVILES

Con el avance tecnológico en la industria móvil están cambiando las diversas actividades sociales de todas las personas, especialmente las actividades de los jóvenes. Por lo anterior, los teléfonos inteligentes y tabletas por su portabilidad, movilidad, e interactividad, representan una oportunidad para el diseño de nuevos modelos de aprendizaje en las instituciones educativas, en las distintas áreas de conocimiento. La incorporación de un medio tecnológico distinto al pizarrón de un salón de clases puede ser un incentivo y un atractivo para el estudiante (Ellen, 2005).

El aprendizaje móvil, también llamado en inglés Mobile Learning (m-Learning) (aprendizaje en movimiento) fue empleado inicialmente por Clark Quinn haciendo referencia al término e-Learning (aprendizaje electrónico) a través de dispositivos móviles de computación (Quinn, 2000).

Es importante señalar que existen diversas definiciones de m-learning, que coinciden en que intervienen principalmente los elementos de movimiento y aprendizaje utilizando dispositivos móviles. El aprendizaje móvil es un tipo de aprendizaje que tiene como característica principal el uso de teléfonos inteligentes y tabletas, para favorecer y apoyar el ámbito educativo en el proceso enseñanza-aprendizaje (Ramírez, 2008).

El m-Learning evita la ruptura que se da en el proceso cuando se finaliza una clase en un salón. Una vez que las horas de aprendizaje han finalizado, aquellos estudiantes que lo deseen pueden continuar aprendiendo más gracias a su dispositivo móvil. Entre las principales ventajas del aprendizaje móvil se encuentran las siguientes (UNESCO, 2005): a).- Facilidad de uso y aprendizaje, b).- Crear comunidades de aprendizaje, c).- Expansión del alcance y equidad de la educación, d).- Facilita el puente entre el aprendizaje formal e informal y e).- Promueve las competencias de las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones.

## APLICACIONES MÓVILES PARA LA ENSEÑANZA - APRENDIZAJE EN EL ÁREA FORESTAL

En México existe un gran número de diversidad de especies naturales lo que origina que una diversidad basta de organismos de los cuales se desconocen sus orígenes y

sus propiedades. Por ello las investigaciones en el ámbito de la biodiversidad se hacen prioritarios y con ello el desarrollo de nuevas herramientas tecnológicas que faciliten las tareas de los investigadores forestales. La conservación de la biodiversidad existente en el mundo se ha convertido en una preocupación global (CONABIO, 2009).

La automatización de la determinación taxonómica podría evolucionar la sistemática en una ciencia comprobable accesible para cualquier persona. En este trabajo se presenta un ejemplo concreto de una aplicación móvil capaz de identificar de manera taxonómica las especies de la familia Pinaceae conocidas en la Sierra de Zongolica, Veracruz, estas especies son de gran importancia económica para las familias dedicadas a su aprovechamiento. Mediante este programa de cómputo de aplicación móvil es posible la identificación de 8 especies conocidas para la zona montañosa de la Sierra de Zongolica; dicha aplicación móvil consta de una clave de identificación con fotografías correspondientes a las diferentes especies e incluye también un glosario ilustrado.

## SISTEMA OPERATIVO ANDROID

Android es un sistema operativo de código abierto para terminales de dispositivos móviles, se programa principalmente en lenguaje Java y su núcleo está basado en Linux (Gómez, 2015).

Tanto el sistema operativo Android como la plataforma de desarrollo están liberados bajo la licencia de Apache (Tomás, 2018). La primera versión oficial del sistema operativo Android (1.1) apareció en 2009. Desde entonces han ido apareciendo versiones de Android, desde la 1.5 llamada Cupcake y que se basaba en el núcleo de Linux 2.6.27, hasta las versiones actuales orientadas a tablets, teléfonos móviles y otros dispositivos, como por ejemplo aplicaciones para TV. El núcleo de Android le proporciona al sistema operativo diversos servicios como la seguridad, el manejo de la memoria, el multiproceso, la pila de protocolos y el soporte de los programas manejadores para dispositivos (Tomás, 2018).

Cada versión del sistema operativo Android, tiene un nombre inspirado en la repostería, siguiendo un orden alfabético: Apple Pie, Banana Bread, Cupcake, Donut, Eclair, Froyo, Gingerbread, Honeycomb, Ice Cream Sandwich, Jelly Bean, Kit Kat, LollipopMarshmallow y Nougat (Android, 2018).

## INGENIERÍA DE SOFTWARE

Un proceso de software es un conjunto de actividades y resultados asociados que producen un producto. Estas actividades son realizadas por los ingenieros de software. Existen 4 actividades fundamentales de procesos que son comunes para todos los procesos de software (Pressman, 2010). Las actividades del proceso de software son las siguientes:

1. **Especificación del software.** Los clientes e ingenieros definen el software a

producir y sobre las restricciones de su operación.

**2. Desarrollo del software.** Se diseña el software y se realiza la programación.

**3. Validación del software.** El software se valida para asegurar que es lo que el cliente requiere.

**4. Evolución del software.** El software se modifica para adaptarlo a los cambios requeridos por el cliente y el mercado.

Para este trabajo se implementó Ingeniería de software para la construcción del software en cada uno de los procesos que se presentan en el cuadro 1.

| Fase | Actividad | Producto |
|---|---|---|
| Análisis de requerimientos | Análisis de requerimientos del cliente | Formato IEEE Std-830 |
| Diseño | Modelado de la aplicación | Compendio de diagramas utilizando el lenguaje de modelado unificado |
| Desarrollo | Codificación bajo el lenguaje de programación Java | Módulos de la aplicación móvil |
| Integración y pruebas | Integración de módulos de la aplicación e implementación | Aplicación Móvil |

Cuadro 1. Proceso de Ingeniería de software. Fuente: Elaboración propia.

## METODOLOGÍA DE DESARROLLO Y MATERIALES

El presento proyecto se realizó en el Instituto Tecnológico Superior de Zongolica (ITSZ) el cual está adscrito al Tecnológico Nacional de México, TecNM.

Un modelo de procesos del software es una descripción simplificada de un proceso del software que presenta una visión de ese proceso. Estos modelos pueden incluir actividades que son parte de los procesos y productos de software y el papel de las personas involucradas en la Ingeniería de Software. (Pressman, 2010).

Para este proyecto se empleó el modelo llamado ciclo de vida clásico, sugiere un enfoque sistemático y secuencial para el desarrollo del software, que comienza con la especificación de los requerimientos por parte del cliente y avanza a través del diseño, desarrollo, prueba y mantenimiento. La figura 1 presenta el modelo en cascada para el desarrollo del software.

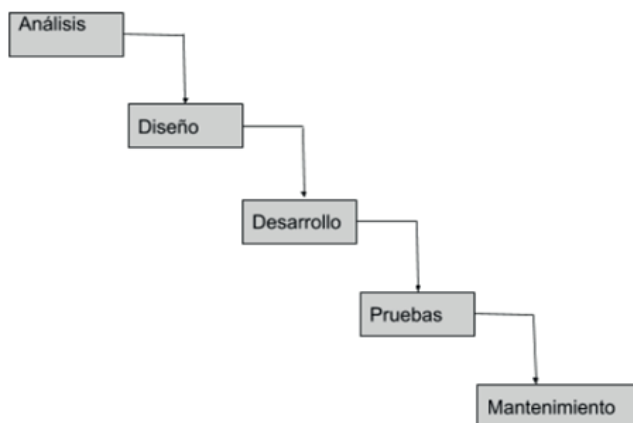



Fig. 1. Modelo en cascada para el desarrollo de software. Fuente: [Pressman, 2010].

El proyecto de la aplicación móvil a su vez está propuesto por el diseño instruccional que considera aspectos elementales para la presentación de los contenidos (Tobón, 2007).

La aplicación móvil se desarrolló con el lenguaje de programación Java (Tomás, 2018), utilizando el paradigma de la programación orientada a objetos (Lozano, 2017). El lenguaje Java tiene las siguientes características técnicas: lenguaje orientado a objetos, robusto, portable, multihilo. Las aplicaciones móviles para dispositivos Android están programadas en Java y se ejecutan en una máquina virtual llamada Dalvik (Lozano, 2017). Se utilizó la herramienta tecnológica Android Studio como el entorno de desarrollo integrado (IDE) para el proyecto de la aplicación móvil (Android, 2018).

Android Studio consiste del entorno de desarrollo integrado (IDE) para aplicaciones móviles, brinda todo lo que se necesita un desarrollador de sistemas para crear proyectos de aplicaciones móviles. Android Studio es la herramienta tecnológica oficial la cual puede ser descargada desde el sitio Web de desarrollo Android (Android, 2018).

## RESULTADOS

Como parte de los resultados del presente trabajo, a continuación en las figuras 2 y 3 se muestran algunas pantallas que se incluye en la aplicación móvil.

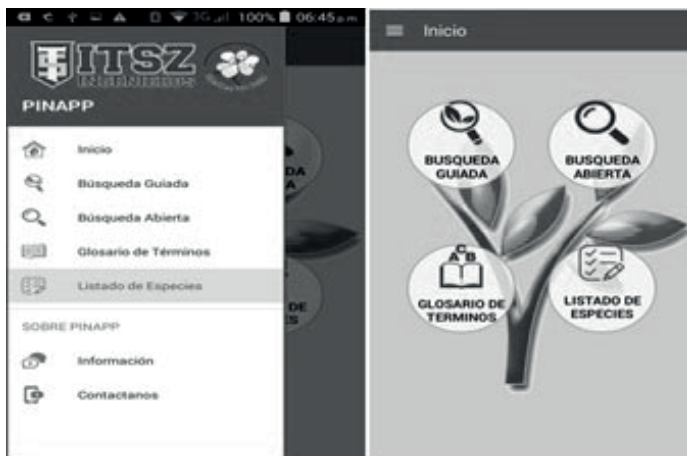



Fig. 2. Pantallas que se incluyen en la aplicación móvil. Fuente: Elaboración propia.

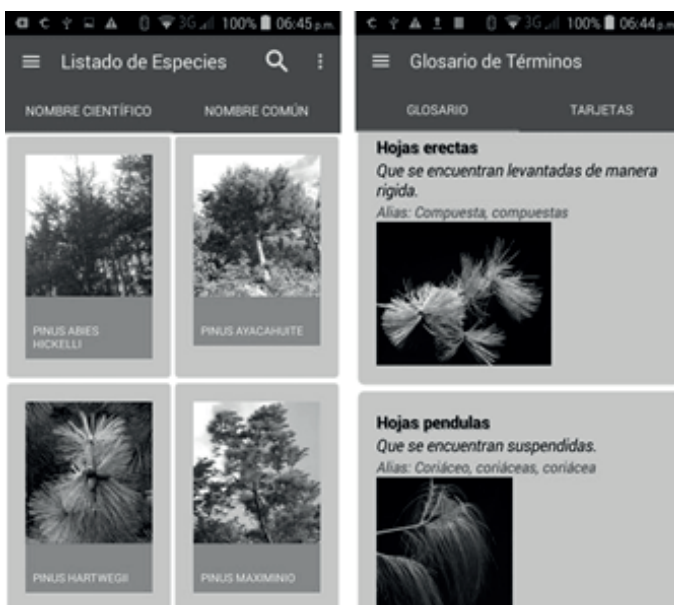



Fig. 3. Pantallas de la aplicación móvil que incluyen el listado de especies y glosario de términos. Fuente: Elaboración propia.

## CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

Los dispositivos móviles (teléfonos celulares y tabletas) se están convirtiendo cada vez más en las herramientas básicas para las diversas actividades de los usuarios finales en diferentes sectores y el educativo no es la excepción. El lanzamiento de Android como plataforma para el desarrollo de aplicaciones móviles ha tenido una importante aceptación tanto por parte de los usuarios como parte de la industria electrónica de fabricantes de dispositivos móviles.

Este trabajo consistió en el diseño y desarrollo de una aplicación móvil, con la cual es posible la identificación de 8 especies conocidas de pinos para la zona montañosa de la Sierra de Zongolica, en zona centro del estado de Veracruz. El sistema de la aplicación móvil desarrollada, consta de una clave de identificación con fotografías correspondientes a las diferentes especies y también de un glosario ilustrado. La aplicación móvil funciona bajo la plataforma del sistema operativo Android. En el documento se expuso las características principales del aprendizaje móvil incluyendo los recursos tecnológicos como el lenguaje Java y el entorno de desarrollo Android Studio para la implementación de la aplicación, también se presentó la metodología utilizada para el desarrollo de la aplicación. Finalmente, como trabajo futuro se plantea realizar las actualizaciones en la aplicación móvil en la cual permita registrar la georreferencia de la especie encontrada.

## REFERENCIAS


Android. 2018. Android Studio. https://developer.android.com/studio/

CONABIO. 2009. Biodiversidad Mexicana, pinos y cedros.

Dede, C. 2005. Planning for neonmillennial learning styles. Educause Quartely. Vol. 28 No. 1, pp. 7-12

Ellen, W. 2005. Enabling Mobile Learning. Educase Review. Vol. 40, No. 3, pp. 40-53. http://www.educause.edu/ir/library/pdf/erm0532.pdf

Gómez, E. 2015. Desarrollo de Software con Visual C# y Android. México: Alfaomega.

Lozano, M. 2017. Desarrollo de Aplicaciones Android con Java. España: RA-MA Editorial.

Pacheco, M. 2016. Tecnologías de la Información y la Comunicación. México: Pearson.

Pressman, R. 2010. Ingeniería del Software: un enfoque práctico. España: McGraw-Hill.

Quinn, C. 2000. M-learning: mobile, gireles in your pocket-learning. http://www.linezine.com/2.1/features/cqmmwiyp.htm

Ramírez, M. 2008. Dispositivos de mobile learning para ambientes virtuales: implicaciones en el diseño y la enseñanza. Sistema de Información Científica. Apertura Año 8. Número 9. Nueva época. Dic. 2008. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=68811230006

Tobón, M. 2007. Diseño instruccional en un entorno de aprendizaje abierto. Universidad Tecnológica de Pereira.

Tomás, J. 2018. El gran libro de Android. México: Alfaomega.

UNESCO. 2005. Las tecnologías de la información y la comunicación en la enseñanza. http://unesdoc.unesco.org/

# DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD DE CULTIVARES NATIVOS DE PAPA AMARILLA (*solanum phureja* juz *et* buck) EN EL NORTE DEL PERÚ

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Roberto Tirado Lara**
Docente de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque - Perú

**Roberto Hugo Tirado Malaver**
Docente de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrion. Huacho - Perú

**RESUMEN**: En la zona rural de Llama, departamento de Cajamarca, ubicada a 6º22.280' de Latitud Sur, a 78º51.709' de Longitud Oeste y a una altitud de 2900 msnm, se realizó el presente trabajo de investigación de 18 cultivares nativos de la serie diploide de pulpa amarilla, fueron seleccionados por su presencia en los mercados locales y de mayor consumo en la zona rural. Estas son cultivadas y conservados en zonas muy localizadas por pequeños agricultores en las zonas altoandinas, a una altitud de 2000 a 3000 msnm, se consumen en forma de puré de papas, papa picante con cuy, caldo verde y otros platos tradicionales, además de ser la base de su alimentación tienen un alto valor científico, biológico y nutricional. Se utilizó el diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), con 18 tratamientos y tres repeticiones, para determinar la altura de planta, número de tubérculos por planta, rendimiento, peso específico, materia seca y color de fritura, para la comparación de cultivares nativos de sus diferentes características estudiadas, además se utilizó la prueba de significancia de Tukey al nivel de 0.05 de probabilidades. El cultivar Cutervina-Cu de Cutervo, rindió 39,410 t/ha con 62.56% de tubérculos comerciales, 36.74 tubérculos/planta, 21.97% de materia seca y 2.5 color de fritura; el cultivar Amarilla Espolonuda con 33,082 t/ha, 63.25% de tubérculos comerciales, 37.84 tubérculos/planta, 23.10% materia seca tuvo 2.0 color de fritura, el cultivar Tortolita de forma redonda, piel y pulpa crema con 32.217 t/ha y 62.24 tubérculos/planta, 22.93% de materia seca y 1.5 de color de fritura; el cultivar Chanchilomita-Ba de forma redonda, piel roja y pulpa amarilla, tuvo 26,022 t/ha, 28.85% de materia seca y 1.5 de color de fritura es el que presenta los valores más altos de materia seca. Tanto estas características muy significativas, así como el color de piel y pulpa, forma de tubérculos ligeramente ovalados, ojos superficiales, son parámetros para la industria del procesamiento y progenitores para el mejoramiento genético.

**PALABRAS CLAVE:** Cultivar nativo,

diploide, calidad

## INTRODUCCIÓN

En el norte del Perú, las papas nativas de la serie diploide 2n = 2X = 24, especie (*Solanum phureja* Juz *et* Buck), tienen un gran valor científico, biológico y nutricional, son cultivadas y conservadas en zonas muy localizadas por pequeños agricultores de zonas altoandinas, a una altitud de 2000 a 3500 msnm, además de ser la base de su alimentación, son consumidas en forma de puré de papas, papa picante con cuy, caldo verde y otros platos tradicionales; El Perú, es el centro con mayor diversidad de papas nativas, más de 2 800 cultivares de los 3 900 que hay en el mundo (Bonierbale, 2004, Amorós *et al*., 2008). Las papas nativas no solo tienen una alta diversidad de formas y colores, sino también aportan importantes cantidades de nutrientes y compuestos polifuncionales, que afectan beneficiosamente una o más funciones del organismo, más allá de un efecto nutricional adecuado (Villacrés *et al*., 2007). Además, las papas nativas tienen diferentes colores de piel y pulpa, muchas de ellas son amarillas y también pueden tener morado, rojo, azul, negro, blanco, crema y bicolor. Los cultivares de pulpa amarilla tienen un alto contenido de vitamina C y propiedades antioxidantes naturales, antibacterianas, antivirales, antiinflamatorias y anticancerígenas que tienen beneficios potenciales para la salud y los cultivares de pulpa pigmentada roja o púrpura contienen antocianinas y flavonoides, sustancias con efectos antioxidantes y agentes anticancerígenos (Smith, 1975; Landrum *et al*., 2001; CIP 2003; Pascual *et al*., 2008). Entre los antioxidantes tenemos tres grandes grupos de compuestos: vitaminas, compuestos polifenólicos y carotenoides. Pigmentos de pulpa pigmentada ricos en compuestos polifenólicos (Antocianinas, Fenoles, Flava-3-oles y Antioxidante Cápac) con propiedades antioxidantes beneficiosas para la salud; Estos compuestos polifenólicos están regulados a nivel transcripcional (Koes *et al., 2005*) se correlacionan con los niveles de metabolitos, para co-regular con genes estructurales (André et al., 2009).

La calidad de esta especie de papa, para efectos de procesamiento industrial en forma de chips, tiras, copos, y otros tipos de procesados, requiere de otras características que no son requeridas para el consumo en fresco, como la profundidad de los ojos, el color de la piel y la pulpa, la forma, el tamaño, el contenido de materia seca y azúcares reductores, que pueden determinarse con una rigurosa selección de la estabilidad genética de estos ecotipos. Este trabajo constituye un gran aporte en el conocimiento de los mejores cultivares nativos en rendimiento, características fonológicas, calidad para fines comerciales e industriales, identificación y selección de progenitores, siendo los objetivos, la evaluación del desempeño, determinación de la gravedad específica, color de fritura y características agronómicas de 18 cultivares nativos de papa diploides de pulpa amarilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el Distrito de Llama de la provincia Chota de la región Cajamarca, ubicado geográficamente a 6º22.280' de latitud sur, a 78º51.709' de longitud oeste y a una altitud de 2 914 msnm.

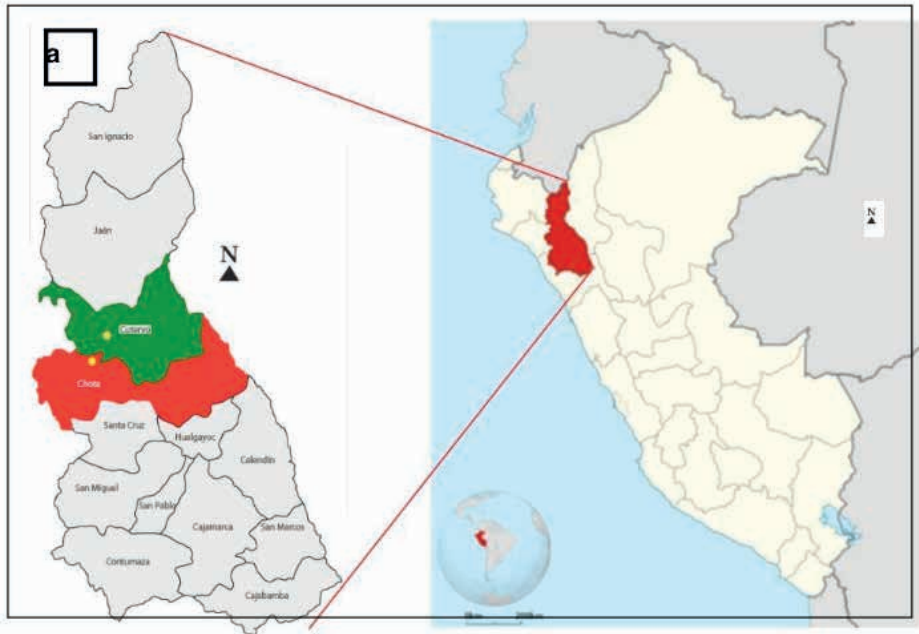



Figura 1. a) Mapa de ubicación, los puntos de color amarillo muestran las zonas de estudio. (Fuente: Andina). b) Ubicación de las zonas de estudio.

(Fuente: Google Earth).

## MATERIALES

Se evaluaron 18 tratamientos consistentes en cultivares nativos de papa amarilla que fueron colectados de la cordillera norte del Perú.

## COSECHA

Observaciones durante el experimento

## ALTURA DE LA PLANTA

Esta evaluación se realizó a 30 y 60 dds, midiendo desde la superficie del suelo hasta el ápice de la planta; y en el momento de la cosecha se midió la longitud del tallo principal desde el cuello de la planta hasta el ápice.

## OBSERVACIONES DURANTE LA COSECHA DEL EXPERIMENTO

Esta característica se realizó en el momento de la cosecha contando el número de tallos principales de cada una de las plantas de los tratamientos.

## RENDIMIENTO TOTAL DE TUBÉRCULOS

Los tubérculos de cada una de las plantas cosechadas de los tratamientos se pesaron y luego se convirtieron a t/ha.

## RENDIMIENTO DE TUBÉRCULOS COMERCIALES POR PLANTA

Para determinar esta característica se relacionó por su diámetro de tubérculos, el cual era mayor a 3 cm y luego se ajustó el peso a t/ha.

## NÚMERO TOTAL DE TUBÉRCULOS POR PLANTA

Se contaron todos los tubérculos de cada una de las plantas de tratamiento.

## OBSERVACIONES DURANTE LA FASE DE LABORATORIO

La determinación de las características se realizó en el Laboratorio del Departamento de Mejoramiento Genético del Centro Internacional de la Papa (CIP) Lima.

## DETERMINACIÓN DE LA MATERIA SECA DE LOS TUBÉRCULOS

Para ello, se pesó de 200 a 205 g de tubérculos frescos por tratamiento, colocados en una estufa durante 72 horas (3 días) a una temperatura de 80 °C, se volvió a pesar y determinó el porcentaje de materia seca.

## DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LA FRITURA

Se cortaron en hojuelas, se colocaron en una cesta de metal para hervir con aceite caliente; a temperatura de 180°C, durante 2,5 minutos. El color de las papas fritas, en la escala subjetiva de colores, asignado por el Centro Internacional de la Papa.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el presente trabajo se utilizó el diseño de Bloques Completos Aleatorios (BCA), con 18 tratamientos y tres repeticiones. Para la comparación de los cultivares nativos de sus diferentes características estudiadas, se utilizó la prueba de significancia de Tukey al nivel de probabilidades de 0.05. Para el estudio de asociación y dependencia de las

diferentes características vegetativas con el rendimiento comercial se realizó el estudio de las regresiones y correlaciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el rendimiento total de tubérculos se encontró alta significancia estadística para los tratamientos, el cultivar Amarilla Cutervina-Cu de piel y pulpa amarilla tuvo un rendimiento de 39,410 t/ha con 62.56% de tubérculos comerciales, 36.74 tubérculos/planta, con 21.97% de materia seca y 2.5 color de fritura; el cultivar amarilla Espolonuda de piel y pulpa amarilla con 33.082 t/ha con 63.25% de tubérculos comerciales, 37.84 tubérculos/planta, 23.10% de materia seca, 2.0 color de fritura, ambos cultivares de forma ligeramente ovalada y ojos superficiales considerados aptos para el procesamiento. El cultivar Tortolita de piel y pulpa crema con 32.217 t/ha., 62,24 tubérculos/planta, 22,93% de materia seca y 1,5 color de fritura; El cultivar Chanchilomita-Ba de piel roja y pulpa amarilla tuvo 26,022 t/ha, 25.85 tubérculos/planta, 28.70% de materia seca y 1.5 de color de fritura, las cuales son características muy significativas para la industria del procesamiento y progenitores para el mejoramiento genético.

| Rend. | | Rend. Com. | | N° | Planta | | color |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Ecotipos** | **(kg/plta)** | **Kg/pta** | **%** | **Tub. /Planta** | **altura** | **Materia seca** | **fritura** |
| Amarilla Cutervina - Cu | 39.410 a | 24.655 | 62.56 | 36.74 abc | 1.33 ab | 21.97 hola | 2.5 |
| Cutervina Ancha - Con | 38.275 ab | 26.490 | 69.21 | 42.64 abc | 1.30 ac | 24.00 defgh | 3 |
| Chaucha Potocha - Ba | 35.710 ab | 23.876 | 66.86 | 52.76 ab | 1.03 gh | 22.03 ghi | 4.5 |
| Perlamayina - Hu | 34.925 ab | 24.643 | 70.56 | 42.31 abc | 1.10 f | 20.73 i | 3.5 |
| Amarilla Espolonuda -Cu | 33.082 ab | 20.924 | 63.25 | 37.84 abc | 1.23 cd | 23.10 efgh | 2 |
| Amarilla Lanchina - Cu | 32.947 ab | 20.510 | 62.25 | 38.16 abc | 1.13 f | 23.50 defgh | 3 |
| Tortolita - Ch | 32.217 ab | 11.614 | 36.05 | 62.24 a | 1.00 h | 22.93 fgh | 1.5 |
| Cutervina Ojo Rojo - Cu | 30.902 ab | 20.392 | 65.99 | 52.76 abc | 0.98 h | 25.17 cde | 3 |
| Chaucha Negra - Ca | 30.150 ab | 18.789 | 62.32 | 28.29 ac. | 1.37 a | 21.93 hola | 1.5 |
| Amarilla Redonda - Ca | 30.015 ab | 20.113 | 67.01 | 41.63 abc | 1.02 gh | 24.40 c | 3.5 |
| Amarilla Larga - Cu | 28.423 ab | 19.396 | 68.24 | 34,74 ac | 0.97 h | 23.20 defgh | 2 |
| Amarilla Tambina - Hu | 28.204 ab | 18.313 | 64.93 | 37.44 abc | 1.20 de | 24.80 cdf | 2.5 |
| Amarilla Peruanita - Ba | 27.816 ab | 19.196 | 69.01 | 40.52 abc | 1.02 gh | 24.07 defg | 2.5 |
| Chaucha Colorada - Ba | 26.659 ab | 17.515 | 65.70 | 32,90 ac | 1.19 de | 29.67 a | 2.5 |
| Chanchilomita - Ba | 26.022 ab | 16.948 | 65.13 | 25.85 c | 1.11 f | 28.70 ab | 1.5 |
| Amarilla Llaucana - Hu | 25.605 ab | 16.600 | 64.83 | 40.72 abc | 1.21 d | 26.70 ac | 3 |
| Chaucha Redonda - Con | 20.505 ab | 13.884 | 67.71 | 20.43 c | 1.24 cd | 26.43 c | 2 |
| Chaucha Pintada - Ba | 17.417 b | 11.655 | 66.92 | 23.82 C | 1.09 fg | 25.27 cd | 4 |
| | **X=32.825** | | | **X= 38.034** | **X=113.912** | **X =24.478** | |
| | **DLS0.05=** | | | **DLS 0.05 =** | **DLS 0.05 =** | **DLS 0.05 =** | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 21.220 | 25.620 **CV.=7.54%** | 7.087 **CV.=2.01%** | 2.083 |

Donde: Cu = Cutervo, Ch = Chota, Ba = Bambamarca, Hu = Hualgayoc, Ca = Cajamarca.

*Significativo; ** Muy significativo; N.: No significativo

1 Las medias con una letra común no son significativamente diferentes (p <= 0,05) según la prueba de Tukey Escala subjetiva de color de fritura del Centro Internacional de la Papa: 1 = amarillo cremoso, 2 = amarillo cremoso con baja presencia de manchas oscuras, 3 = amarillo cremoso con presencia regular de manchas oscuras, 4 = amarillo cremoso con alta presencia de manchas oscuras, 5 = totalmente oscuro.

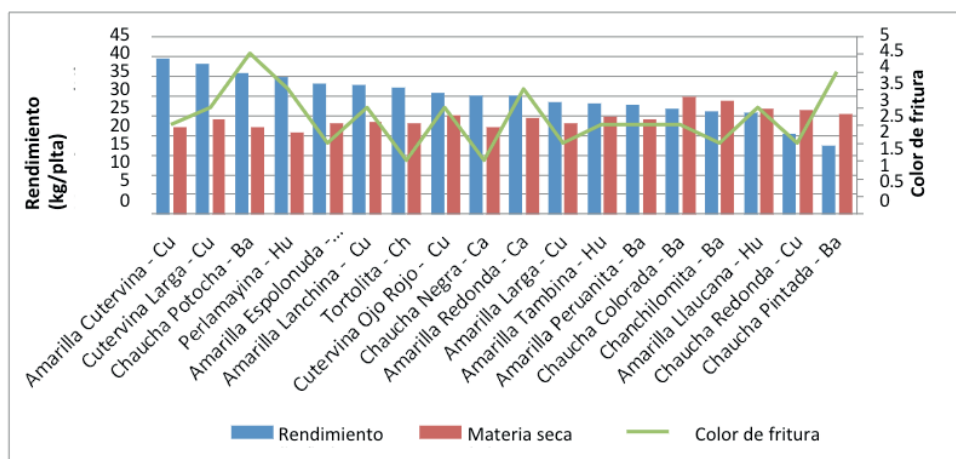
Tabla 1. Pruebas de significación de Tukey (0.05) para rendimiento, número de tubérculos, altura de planta, materia seca, color de fritura, en la determinación de calidad de 18 cultivares nativos de papa amarilla (Solanum phureja Juz et Buck) del Norte del Perú.

Gráfica 1. Rendimiento (kg/planta), materia seca (%), color de fritura (Escala de color CIP) de cultivares nativos de papa amarilla (*Solanum phureja* Juz *et* Buck) en el norte del Perú.

Figura 2. Foto de tubérculos y astillas de cultivares nativos: Cutervina Amarilla (Cu 309), Spolonuda Amarilla (Cu 301D), Tortuga (Ch-P-01), Chanchilomite (Ba 105).

## CONCLUSIÓN

El cultivo Cutervina-Cu, presentó el mayor rendimiento de 39,410 t/ha con 62.56% de tubérculos comerciales, 36.74 tubérculos/planta, con 21.97% de materia seca y 2.5 de color de fritura, seguido por el cultivar Amarilla Espolonuda con 33.082 t/ha con 63.25% de tubérculos comerciales, 37.84 tubérculos/planta, 23.10% de materia seca y 2.0 color de fritura, tanto de piel como de pulpa amarilla, con ojos ligeramente superficiales, tubérculos en forma ligeramente ovalada, reúnen las características requeridas por la industria de procesamiento. Así como el cultivar Tortolita de forma redonda, piel crema y pulpa crema con 32.217 t/ha y 62.24 tubérculos/planta, 22.93% de materia seca y 1.5 de color de fritura, caracteres muy significativos de este cultivar para procesamiento y progenitor; El cultivar Chanchilomita-Ba de forma redonda, piel roja y pulpa amarilla, tuvo 26,022 t/ha, 25.85 tubèrculos/planta, 28.70% de materia seca y 1.5 de color de fritura es el que presenta los valores más altos de materia seca, cuyas características son para la industria procesadora y parental.

## REFERENCIAS


Amorós W., Bonierbale, M. & Manrique K. 2008. **Mejoramiento genético de la papa para uso gourmet.** Centro Internacional de la Papa CIP. (Lima).

Bonierbale M., Amorós W. & Espinoza J. 2004. **Estrategias y desafíos para el mejoramiento de papa para procesamiento.** Agricultura & Agri-Food, New Brunswick- Canadá, Centro Internacional de la Papa (Lima), 12p.

Centro Internacional de la Papa. 2003. **Hojuelas de papa de colores. Conservando la biodiversidad ancestral con nuevas formas de consumo**. Lima, CIP Perú. 2p.

Koes R., Verweij W. y Quattrocchio F. 2005. **Flavonoides: un modelo colorido para la regulación y evolución de las vías bioquímicas. Tendencias Plant** Sci 10:236-242.

Landrum, J. y Bone, R. 2001. **Luteína, zeaxantina y pigmento macular.** Archivos de Bioquímica y Biofísica. 385: 28-40.

Pascual, T. y Sánchez, B. 2008. **Antocianinas: de la planta a la salud.** Fitochem 7: 281-299.

Herrero 0. 1975. **Patatas fritas. En el procesamiento de la patata**. Eds. W.F. Talburt 0. Herrero. Westport, CT, The Avi Publishing Company, Inc., 305-402.

Villacrés E., Monteros C., Reinoso I. & Quilca N. 2007. **El aporte de la papa nativa a la nutrición, la alimentación, salud y seguridad alimentaria de la población ecuatoriana.** Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

# CAPÍTULO 7

# DINÂMICA DO MANEJO FITOSSANITÁRIO DA CULTURA DA SOJA EM MARIALVA-PR

*Data da submissão: 08/01/2024* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Luciano Ferreira Matiússi**
Universidade Estadual do Centro-Oeste
Curso de Agronomia, Guarapuava-PR.
http://lattes.cnpq.br/3780585404707545

**Cleber Daniel de Goes Maciel**
Universidade Estadual do Centro-Oeste
Departamento de Agronomia,
Guarapuava-PR.
http://lattes.cnpq.br/9449940655719033

**Edson Perez Guerra**
Universidade Estadual do Centro-Oeste
Departamento de Agronomia,
Guarapuava-PR.
http://lattes.cnpq.br/8571916045049616

**RESUMO**: O manejo fitossanitário na cultura da soja está diretamente relacionado com fatores que influem nas perdas de produtividade e elevação dos custos de produção. Este trabalho teve por objetivo o acompanhamento técnico para a consolidação de conhecimentos adquiridos na graduação em agronomia, na Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). Durante o estágio supervisionado foram realizadas visitas em propriedades rurais assistidas, com análise das condições fitossanitárias na cultura da soja, incluindo: presença de pragas, doenças e plantas daninhas, assim como avaliando as estratégias de manejo a serem adotadas e/ou a eficácia dos manejos já implementados. A metodologia foi norteada pelo cumprimento da legislação do uso de agrotóxicos, por conhecimento sobre os ingredientes ativos dos produtos utilizados no controle químico e considerando a experiência profissional dos engenheiros agrônomos. O controle de plantas daninhas teve como ponto central o controle das espécies buva, trapoeraba e milho voluntário, e incluíram principalmente: o manejo de herbicidas, estratégias contra a resistência de plantas daninhas ao glifosato e o controle físico/químico exercido pela palhada originada pelos resíduos das culturas de inverno. O monitoramento simultâneo da presença de doenças na cultura da soja e das condições climáticas, foi realizado antes e depois das aplicações de fungicidas recomendados. No manejo das doenças houve destaque para a prevenção da ferrugem asiática, assim como controle de oídio e mancha-parda. As avaliações de incidência de pragas foram centradas principalmente no monitoramento de percevejo-marrom, vaquinha e lagarta-falsa-medideira. A experiência a campo no

manejo fitossanitário da soja permitiu observar contrastes entre o conhecimento teórico e prático, como o problema de plantas daninhas ser narrado como o principal obstáculo à produção da cultura e não a ferrugem asiática da soja, o que seria o mais previsível.
**PALAVRAS-CHAVE:** assistência técnica, fitossanidade, *Glycine max* L.

## DYNAMICS OF PHYTOSANITARY MANAGEMENT OF SOYBEAN CROPS IN MARIALVA-PR

**ABSTRACT**: Phytosanitary management in soybean crop is directly related to factors that influence productivity losses and increased production costs. This work aimed to follow a technical team for the consolidation of knowledge acquired during agronomy degree at the Midwest State University (UNICENTRO). During the supervised internship, visits were carried out on assisted rural farms, with analysis of phytosanitary conditions in soybean, including: presence of pests, diseases and weeds, as well as evaluating managements strategies to be adopted and/or the efficiency of managements already made. The work methodology was guided by compliance with legislation on the use of pesticides, for knowledge about active ingredients of the used products in chemical control and considering the professional experience of the agronomist. Weed control had the horseweed, dayflower and voluntary corn species control as its central point, and mainly included: herbicide management, strategies against weed resistance to glyphosate and physical/chemical control by straw originated from winter crops residues. The presence of disease in soybean and the weather conditions were monitored simultaneously, realized either before and after recommended fungicide applications. There were disease managements with emphasis on asian soybean rust prevention, as well as powdery mildew and brown spot control. Pest incidence assessment was mainly focused on monitoring brown stink bugs, corn rootworm and looper caterpillar. Field experience in soybean phytosanitary management allowed to observe contrasts between theoretical and practical knowledge, such as the problem of weeds being narrated as the main obstacle to crop production and not asian soybean rust, which would be the most predictable.
**KEYWORDS:** technical assistance, plant health, *Glycine max* L.

## 1 | INTRODUÇÃO

A redução na produção da soja e outras culturas devido a ocorrência de plantas daninhas, doenças e pragas está relacionada a perdas e elevação dos custos de produção. Sobre as perdas causadas por plantas daninhas, há relatos com índice de até 90% de perdas (GAZZIERO et al., 2021). As doenças na soja despertam atenção devido a sua importância econômica. A mais relevante delas, a ferrugem asiática, causada pelo agente etiológico *Phakopsora pachyrhizi*, tem capacidade de causar perdas de até 90% da produção (PELIN, WORDELL FILHO e NESI, 2020). Sobre as perdas causadas pela ocorrência de pragas, os valores podem variar de 7 a 20% e associadas à elevação de preços de produtos derivados da soja ou de origem animal (CEPEA, 2019).

As técnicas de manejo para os problemas fitossanitários da soja não permanecem estáticas ao longo do tempo, como verificado no manejo contra a ferrugem. Diante dos

índices de controle observados dos principais fungicidas utilizados – dos grupos químicos triazóis e estrobilurinas – que são fungicidas de sítio específico, emprega-se como alternativa a associação destes com fungicidas multissítio, como o mancozebe, pertencente ao grupo químico dos ditiocarbamatos. A associação de misturas de fungicidas de sítio específico com fungicidas multissítio proporciona controle entre 54 a 81% (GODOY et al., 2022).

A resistência das plantas daninhas aos herbicidas é outro estímulo à pesquisa e inovações das técnicas de manejo. Dentre os registros de resistência estão as populações de buva (*Conyza* spp.), nas quais foi verificado a resistência múltipla aos herbicidas glifosato e clorimuron, os quais atuam nos mecanismos de ação inibindo das enzimas 5-enolpiruvoilshiquimato 3-fosfato sintase e acetolactato sintase, respectivamente (SILVA, 2018). Isso ressalta a importância do manejo integrado de plantas daninhas, incluindo a produção de palhada e utilização criteriosa dos herbicidas.

É essencial o monitoramento das áreas de cultivo de soja e a adoção de medidas de intervenção, tanto para a prevenção quanto para a resolução, evitando-se as perdas de produção. O presente trabalho teve como objetivo o acompanhamento técnico para a consolidação de conhecimentos práticos adquiridos ao longo do curso de graduação, realizado na Universidade Estadual do Centro-Oeste.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

O estágio foi realizado na empresa Agro Tech Insumos Agrícolas LTDA, com sede física localizada no município de Marialva, Paraná. As principais atividades agrícolas são consultoria agrícola e comercialização de insumos agrícolas, havendo maior ênfase para problemas fitossanitários das culturas de soja, milho, trigo, mandioca, pastagem, tomate, pimentão, pimenta, pepino, melão, morango, alface, crucíferas, banana, goiaba, melancia e plantas ornamentais (AGRO TECH, 2023).

As atividades desenvolvidas na assistência técnica estão organizadas em três grupos: manejo de plantas daninhas, manejo de doenças e manejo de pragas na cultura da soja. Algumas atividades se concentrarão mais em determinada época da safra 2022/2023, mas muitas ocorreram de forma simultânea.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Manejo de plantas daninhas na cultura da soja

As atividades desenvolvidas na soja tinham como ponto principal, o manejo e monitoramento das plantas daninhas, que constituem o problema fitossanitário de maior destaque nas áreas assistidas. O manejo é dedicado principalmente para o controle da buva (*Conyza* spp.), em função da presença de populações que apresentam resistência ao

glifosato. Pode-se observar áreas extensas nas áreas de cultivo de soja e outras culturas (Figura 1).

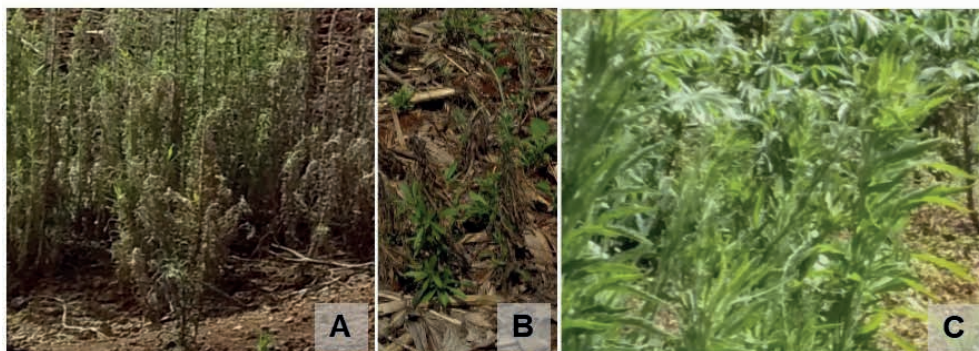



Figura 1. Plantas de buva (*Conyza* spp.) (A) que sobreviveram à dessecação em bordadura de soja; (B) planta rebrotada; (C) plantas em área de mandioca. Fonte: MATIUSSI, (2022).

Em segundo lugar destaca-se a trapoeraba (*Commelina* spp.), que se tornou um problema de controle pela tolerância natural ao glifosato, devido a características ligadas a absorção e translocação do herbicida (OLIVEIRA JUNIOR, CONSTANTIN e INOUE, 2011).

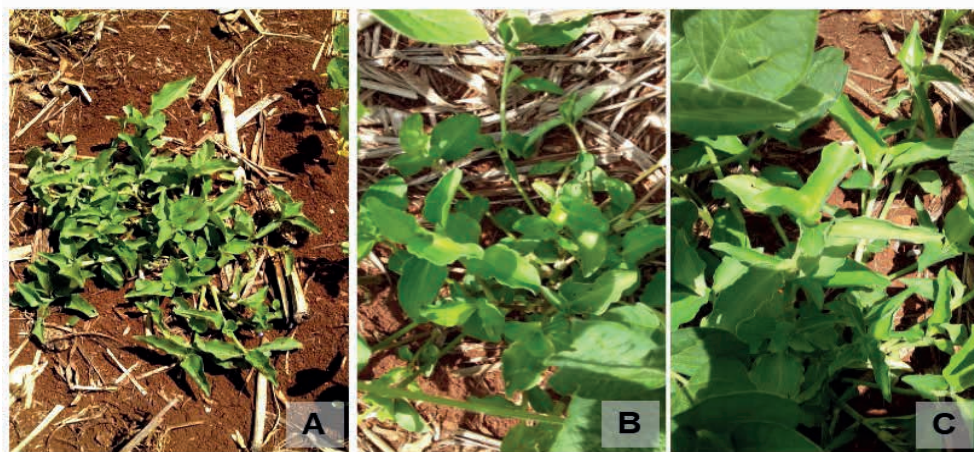



Figura 2. Plantas de trapoeraba (*Commelinna* sp.) (A) que sobreviveram à dessecação anterior à semeadura; (B) crescimento sobre a palhada; (C) planta abaixo do dossel da soja. Fonte: MATIUSSI, (2022).

Outras espécies de plantas daninhas observadas nas lavouras de soja (Figura 3) foram: carrapicho (*Cenchrus echinatus*), capim-amargoso (*Digitaria insularis*), caruru-gigante (*Amaranthus hybridus*) e a corda-de-viola (*Ipomoea* sp.). A corda-de-viola, por ser de hábito trepador, pode causar dificuldades na colheita (OLIVEIRA JUNIOR, CONSTANTIN e INOUE, 2011). Entretanto não constituem um problema expressivo, uma vez que elas são

controladas no manejo contra a buva e a trapoeraba com relativa facilidade.

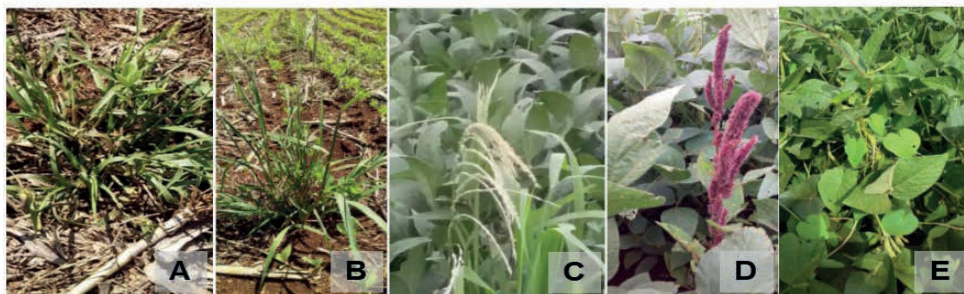



Figura 3. Plantas daninhas na soja (A) carrapicho (*Cenchrus echinatus*); (B e C) capim-amargoso (*Digitaria insularis*); (D) caruru-gigante (*Amaranthus hybridus*); (E) corda-de-viola (*Ipomoea* sp.). Fonte: MATIUSSI, (2022-2023).

Durante as vistorias foi demonstrado a influência da escolha da cultura de inverno e seu respectivo manejo na população de plantas daninhas na soja. Ao avaliar a eficiência dos controles físico e químico adotados, foi observado o predomínio de população de buva. Houve demonstração dos resultados das dessecações e a influência da cultura anterior na população de plantas daninhas nos estádios iniciais da soja, em semeadura, em estádio de emergência e em estádios V1 e V2, e áreas onde não havia iniciado o período crítico de prevenção da interferência (PCPI), que pode ter duração de 20 até 50 dias depois de ocorrido a emergência da soja (GAZZIERO et al., 2021).

As culturas que antecederam a cultura da soja foram milho e trigo. Ao avaliarmos os resíduos deixados sobre o solo no pós colheita culturas supracitadas, foram consultados registros fotográficos para estimar visualmente a quantidade de palha encontrada na área em toneladas de massa seca, levando em consideração o padrão formado da cobertura do solo. De forma geral, as áreas em questão podem ser classificadas quanto ao controle de plantas daninhas e a população destas plantas presentes na seguinte forma:

a. Áreas com o trigo como cultura de inverno (Figura 4.A e 4.B): apresentaram a menor população de buva nos estádios iniciais da cultura da soja e menores custos com controle químico. Nestes locais, a cobertura morta estimada foi igual ou superior a 7 t ha$^{-1}$ (LOCATELLI et al., 2016);

b. Áreas onde foi cultivado milho antes da soja e com maior cobertura do solo pela palhada (Figura 4.C e 4.D): apresentaram baixa população de buva, embora seja maior que na área de trigo. Estas áreas apresentam quantidade de palhada estimada de cerca 6 t ha$^{-1}$ (CONSTANTIN et al., 2013).

c. Áreas onde foi cultivado milho antes da soja, com menor cobertura do solo por palhada (Figura 4.E e 4.F): apresentaram as maiores populações de buva nos estádios inicias da soja, tornando o controle mais oneroso. A quantidade de palhada estimada foi menor que 2 t ha$^{-1}$ (CONSTANTIN et al., 2013).

O controle físico exercido pela palhada sobre a emergência das plantas daninhas diminui os custos com o controle químico, além dos outros benefícios que a cobertura do solo traz para a cultura. Uma alternativa para o incremento de palhada é o consórcio de milho com braquiária, com vários benefícios ao milho e soja, de caráter conservacionista. A cobertura deixada pela braquiária após a colheita do milho propicia controle de plantas como a buva e a trapoeraba. No entanto, o preço da semente de braquiária tem sido um impasse para a adesão desta prática (RICHETTI et al., 2019).

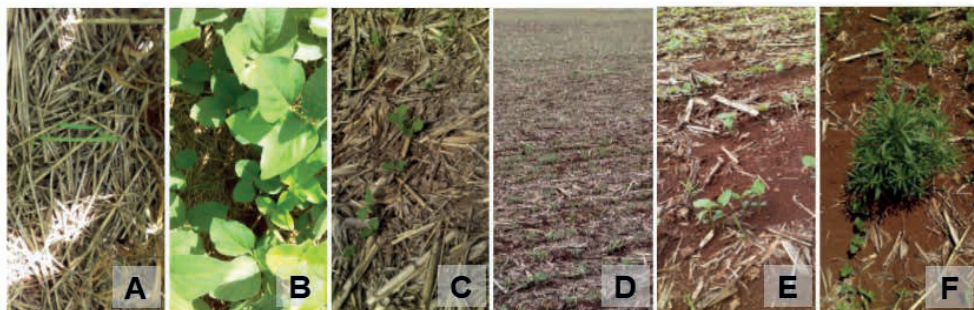



Figura 4. Aspectos da palhada na soja (A e B) cultura anterior foi o trigo; (C e D) palhada mais densa do milho; (E e F) palhada menos densa do milho. Fonte: MATIUSSI, (2022).

Alguns critérios para escolha da cultivar de milho estão relacionados com o controle de plantas daninhas no período de entressafra e no ciclo de cultivo da soja. Recomenda-se o híbrido de milho precoce com resistência ao enfezamento. Não é aconselhado o uso de híbrido de milho superprecoce devido ao menor crescimento vegetativo, menor sombreamento do solo e menor produção de palhada. Além disso também apresentam arquitetura que permite maior entrada de luz no solo, pois as folhas destes são mais inclinadas. O menor ciclo do milho está relacionado com o menor número de folhas, menor tamanho das plantas e folhas mais eretas (ALMEIDA et al., 2000), que acarretam em menor quantidade de palhada e maior taxa de emergência de plantas daninhas. A ocorrência do enfezamento resulta em menor formação de palhada devido ao menor desenvolvimento vegetativo. Para maior formação de palhada também se adota o menor espaçamento entrelinhas. sugerindo-se o uso de 45 cm.

Deve ser realizado o controle das plantas de milho voluntárias, que nascem isoladas ou agrupadas em meio à soja (Figura 8). Estas plantas são originadas de sementes aderidas a espigas não colhidas, originadas de plantas afetadas pelo enfezamento que não atingiram altura ideal para a colheita. Quanto mais intenso os danos causados pelo enfezamento no milho, maior será a necessidade do emprego de herbicida para o controle do milho espontâneo na cultura da soja.

A prática de manejos errôneos, como a não dessecação em áreas vizinhas no período de entressafra, traz consequências como: o abrigo, com a sobrevivência das

pragas na entressafra e geração de sementes que são levadas pelo vento, uma vez que a buva, espécie da família Asteraceae, apresenta disseminação por anemocoria (MOREIRA, 2011). Alguns agricultores da região optaram pela não dessecação das plantas daninhas na entressafra, em razão dos elevados custos com o manejo de herbicidas e recorreram à gradagem. No controle químico empregado na dessecação que antecedeu a semeadura da soja, prevaleceu o uso de combinação de herbicidas (Figura 5).

Todos os ingredientes ativos utilizados (Figura 5) levam em consideração os eventos transgênicos das cultivares de soja e de milho com a tecnologia *Roundup Ready*, com tolerância ao glifosato. As cultivares de soja observadas não portam tolerância a outros ingredientes ativos como dicamba, glufosinato e 2,4-D. Estes herbicidas podem ser utilizados somente em período anterior a semeadura, e respeitando o intervalo necessário para a semeadura.

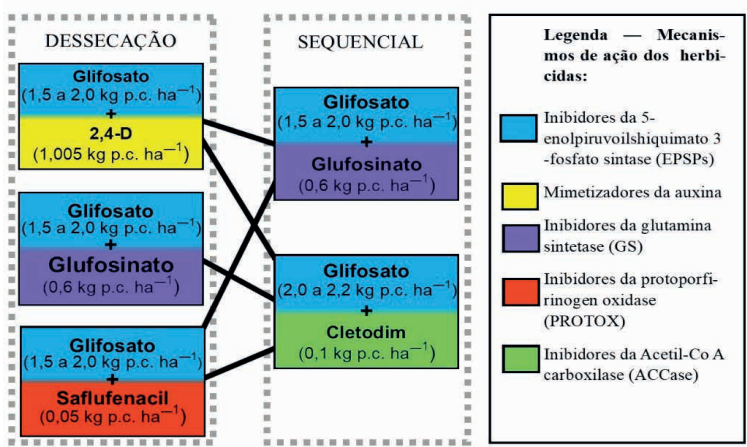



Figura 5. Representação das combinações de herbicidas para dessecação e aplicação sequencial. Adaptado de COMITÊ DE AÇÃO A RESISTÊNCIA AOS HERBICIDAS- HRAC-BR (2022).

A associação do glifosato com um segundo princípio ativo nas aplicações de dessecação é uma estratégia adotada para o controle de populações de buva e trapoeraba resistentes ou tolerantes ao glifosato. Abaixo segue três sugestões de combinações encontradas na literatura:

a. Costa (2021) demonstra que a mistura de 2,4-D e glifosato, nas doses de 0,975 kg p.c. $ha^{-1}$ e 1,025 kg p.c. $ha^{-1}$, respectivamente, associada com uma segunda aplicação, num intervalo de dez dias com 0,5 kg p.c. $ha^{-1}$ de glufosinato, proporcionou controle da buva entre o 14º e 56º dia após a aplicação com eficiência de 83% a 88%;

b. Castro et al. (2017) obtiveram controle de plantas de trapoeraba em doses de 720 g i.a. $ha^{-1}$ de glyphosate + 35 g i.a. $ha^{-1}$ de saflufenacil, obtendo eficácia de controle entre 83% a 97% de mortalidade com a mistura;

c. A combinação de 2,4-D e glifosato é mais eficiente para o controle da trapoeraba, quando comparado com o uso destes herbicidas isoladamente, sugerindo sinergismo (OLIVEIRA JUNIOR, CONSTANTIN e INOUE, 2011).

Em muitos casos observados foram utilizadas duas aplicações em pré-semeadura. O intervalo entre estas aplicações variou entre 15 e 20 dias. Houve casos com apenas uma aplicação pré-semeadura, na combinação de glifosato e glufosinato. Isto foi possível graças ao manejo de plantas daninhas na cultura de inverno e a grande quantidade de palhada deixada pela cultura. Nas áreas onde a cultura anterior era o trigo, também ocorreram casos semelhantes.

As recomendações de combinação de glifosato com cletodim para aplicação sequencial em pré-semeadura, estão relacionadas com a presença de plantas voluntárias de milho, de cultivar com tecnologia *Roundup Ready* e necessitam assim, de outro ingrediente ativo para que ocorra o seu controle.

A Lei Ordinária nº 1866/1996 de 12/12/1996, que vigorou até 28 de novembro 2022 no município de Marialva, restringia o uso do 2,4-D, de modo que este herbicida não podia ser utilizado em áreas com distância inferior a 20 km das áreas onde havia cultivo de hortas, videiras e outras frutíferas (PREFEITURA DE MARIALVA, 1996). Nestes casos, a alternativa para a substituição do 2,4-D foi o glufosinato.

A partir de 29 de novembro 2022 entrou em vigor a Lei nº 2575/2022, que proíbe o uso de herbicidas que contenham ingrediente ativo de mecanismo de ação do grupo mimetizadores de auxinas (grupo O), para áreas com distância inferior a 2 km das áreas onde estão implantadas culturas sensíveis a este mecanismo de ação (PREFEITURA DE MARIALVA, 2022). Pode-se observar a presença de áreas vizinhas a soja com cultivo de videira, que é considerada muito sensível aos herbicidas auxinicos. Neste caso, destaca-se que a deriva desses herbicidas aplicados na dessecação, podem danificar culturas sensíveis da área vizinha.

Quanto às aplicações em pós-emergência, foram utilizados os ingredientes ativos glifosato e cletodim (Figura 6). A presença de cletodim foi necessária nas áreas onde a soja foi antecedida pelo milho; e nas áreas onde havia trigo foram utilizadas duas aplicações sequenciais de glifosato.

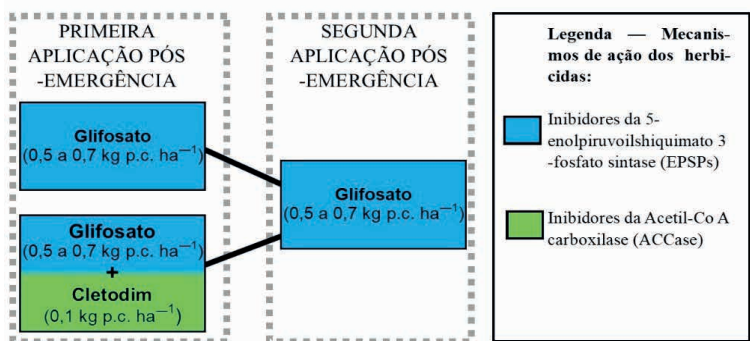



Figura 6. Representação de ingredientes ativos de herbicidas utilizados em pós-emergência na soja. Adaptado de COMITÊ DE AÇÃO A RESISTÊNCIA AOS HERBICIDAS- HRAC-BR (2022).

O talhão ilustrado na Figura 7, apresentava-se com plantas de milho voluntário, devido a espigas que caíram durante o procedimento da colheita. Nesta área também foi identificado a presença de trapoeraba não controlada. Houve pulverização entre os dias 14 e 18 de novembro, em associação de glifosato e cletodim, nas doses respectivas de 0,7 kg p.c. $ha^{-1}$ e 0,1 kg p.c. $ha^{-1}$. Em nova vistoria, no final de novembro, verificou-se que o manejo recomendado foi eficiente para o controle do milho espontâneo.

Figura 7. Plantas espontâneas de milho em lavouras de soja.

Fonte: MATIUSSI, (2022).

Em nova vistoria, realizada no final de novembro, verificou-se que o manejo recomendado foi eficiente para o controle de milho voluntário. Entretanto, observou-se plantas de trapoeraba que sobreviveram aos herbicidas, embora apresentassem amareladas (Figura 8). Pelo amarelecimento e coloração verde das extremidades, pode-se inferir que houve novas brotações após a ação do glifosato.

Figura 8. Planta de trapoeraba (*Commelinna* sp.) sobrevivente à aplicação de herbicidas glifosato e cletodim. Fonte: MATIUSSI, (2022)

É importante ressaltar que foram observados sintomas visuais de fitointoxicação na cultura da soja com a aplicação de glifosato e cletodim associados, em plantas que não recuperaram a área foliar: machas marrom-opacas, algumas de formato circular, de até dois milímetros de diâmetro e sem bordos; outras com uma queima de formato mais irregular, de lesão em área mais ampla na folha. Uma das causas da fitointoxicação na soja pode ser a associação do glifosato com o graminicida cletodim (NARDI FILHO, 2013). Outros fatores são: condições meteorológicas inadequadas no momento da aplicação, como baixa umidade do ar, altas temperaturas e vento; maior sensibilidade da cultivar aos ingredientes ativos utilizados e fatores relativos à calda, como pH ou volume inadequado.

Além disso, também foi observado o enrugamento de folhas de soja em partes superiores das plantas (Figura 9), ocorrido em período simultâneo às pulverizações de herbicida. Porém, não há um consenso sobre a causa deste enrugamento. Verificou-se que os sintomas ocorreram em uma mesma área com diferentes cultivares de soja e não ocorreram numa mesma cultivar em diferentes áreas. O enrugamento manifestado em folhas de soja pode ter relação com: problemas nutricionais (deficiência de Boro), fitotoxidez causada por herbicidas, baixas temperaturas, características do solo e outros (BARCELLOS, 2021).

Figura 9. Aspectos do enrugamento de folhas em plantas de soja.

Fonte: MATIUSSI, (2022).

Nardi Filho (2013) em sua pesquisa, demonstra o aumento de fitointoxicação com enrugamento de soja devido à pulverização da associação de glifosato com cletodim, ou outros herbicidas graminicidas, aplicados em pós-emergência da cultura, quando comparado com a aplicação isolada de glifosato.

## 3.2 Manejo de doenças na cultura da soja

Nos estádios iniciais de desenvolvimento da soja, foram observadas reboleiras nas plantas causado por doenças de solo apresentando crescimento inferior. Não houve recomendação para fazer análise biológica para a detecção dos possíveis agentes patogênicos que poderiam estar atuando, focando na resolução do problema por meio do controle biológico.

Houve também a preparação de um tanque para aplicação do produto “Fert Bokashi Premium” para aplicação na lavoura de soja em estádio V2, em uma das áreas assistidas. O produto foi preparado na dose de 4,2 L $ha^{-1}$, preparando na calda o ativado, que é uma mistura de nutrientes que favorece o desenvolvimento dos microorganismos. A calda deve ficar em repouso por 48 horas para ocorrer a ativação. O Fert Bokashi Premium é um produto derivado da fermentação da matéria orgânica que proporciona melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, e fornece melhorias nas condições nutricionais e fitossanitárias da cultura. Além dos aspectos nutricionais e maior desenvolvimento radicular, este produto também atua no combate a agentes patogênicos no solo (SIQUEIRA e SIQUEIRA, 2013). Estão presentes neste fermentado os microrganismos:

a. *Actinomyces* sp. e *Streptomyces* sp.: responsáveis pela síntese de antibióticos

que agem contra fungos e bactérias fitopatogênicas;

b. *Lactobacillus* sp. e *Pediococcus* sp.: combatem fungos *Fusarim* spp. e outros causadores de doenças radiculares por meio da síntese de ácidos orgânicos.

Apesar das altas temperaturas e precipitação frequente, as primeiras manchas foliares foram observadas na cultura da soja somente no estádio de florescimento, em áreas isoladas, restritas às bordaduras ou a pequenos agrupamentos de plantas, em áreas inferiores a 10,0 $m^2$.

O oídio (*Microsphaera diffusa*) foi a doença encontrada com maior frequência (Figura 10.A e 10.B). Nas avaliações foram constatados o micélio branco-acinzentado de aspecto pulverulento na superfície das folhas, característica típica e semelhante ao que ocorre em feijoeiro, algodoeiro e cucurbitáceas. Esta doença está relacionada a perdas da ordem de 40% da produção das culturas (AGRIOS, 2005) e mais associada a áreas próximas a bordadura dos talhões.

Outra doença presente em algumas lavouras de soja foi a mancha parda ou septoriose (*Septoria glycines*) (Figura 11.C e 11.D), que não representou um problema de grande importância e os sintomas não comprometiam grande parte da área foliar. As plantas afetadas se encontravam em áreas mais centrais do talhão e as manchas se concentravam entre o terço médio e inferior. As manchas tinham aspecto angular, de cor castanha e halo amarelado, podendo ser percebidas nas duas faces (HENNING et al., 2014).

Figura 10. Doenças encontrados em soja (A e B) óidio (*Microsphaera diffusa*); (C e D) de mancha-parda (*Septoria glycines*). Fonte: MATIUSSI, (2023).

Em complemento, também foram encontrados durante as vistorias, sintomas de míldio (*Peronospora manshurica*) e mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*) em pontos isolados nas lavouras de soja. Entretanto, as aplicações de fungicidas recomendadas ocorreram em período posterior à identificação dos sintomas e não houve evolução expressiva dos referidos sintomas nas lavouras.

A condição climática predominante foi de chuvas frequentes. Entre os meses de outubro a dezembro foram registrados 430,8 mm, distribuídos em 36 dias de chuva,

registrados em estação meteorológica do município de Maringá (IAT, 2022). A determinação do intervalo entre as aplicações de fungicidas foram norteados pelo efeito residual destes produtos. O panorama predominante das lavouras era de plantas que formavam dosséis densos a partir do florescimento, de modo que partes inferiores do dossel não recebiam radiação solar e isto permitia que permanecesse com alta umidade após as chuvas.

Durante as avaliações foi constatado a importância do entendimento do mecanismo de ação dos fungicidas a serem aplicados na cultura da soja. Houve predomínio da opção pelas combinações de triazol com estrobilurina e triazol com mancozebe.

Apesar de não ter sido identificados sintomas de ferrugem nas áreas de soja, sabe-se que o ponto principal do manejo da doença é direcionado para o controle e prevenção. Acerca disso, o Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC-Brasil, 2022a) descreve:

a. Deve-se empregar para o controle da ferrugem da soja o uso dos triazóis ou carboxamidas, associados à estrobilurinas;

b. O mecanismo de ação dos triazóis é relacionado à inibição da síntese de ergosterol;

c. O mecanismo de ação das carboxamidas é descrito como inibição da respiração no complexo 2 (inibição da enzima dehydrogenase succinato);

d. O mecanismo de ação das estrobilurinas é a inibição da respiração no complexo 3.

Nas avaliações observou-se não ter sido optado pelo uso da molécula carboxamida em função do preço mais elevado dos fungicidas que contém os princípios ativos deste grupo.

O mancozebe é fungicida do grupo ditiocarbamatos, sendo sua ação protetora e de contato. Diferente disto, os triazóis tem ação sistêmica e curativa (GARCIA, 1999). Uma vantagem dos sistêmicos é a proteção de áreas não atingidas na pulverização por meio da translocação e, no caso dos triazóis, a recuperação de áreas afetadas por efeito curativo.

Os ingredientes ativos mais recomendados nos trabalhos com soja acompanhados foram: tebuconazol, difeconazol, metominostrobin e mancozebe. De acordo com a FRAC-Brasil (2022b), os grupos químicos destes fungicidas são: tebuconazol e difeconazol pertecentes ao grupo químico dos triazóis; metominostrobin ao grupo químico das estrobilurinas; mancozebe ao grupo químico dos ditiocarbamatos.

### 3.3 Manejo de pragas na cultura da soja

No período de outubro de 2022 a janeiro de 2023 houve alta precipitação e as chuvas ocorreram de forma frequente, não ocorrendo populações de insetos-praga que causassem danos econômicos significativos e assim, não atingindo o nível de controle.

Nas lavouras de soja ocorreu a presença da vaquinha verde-amarela (*Diabrotica*

*speciosa*), embora não representasse um problema fitossanitário de grande importância (Figura 11.A). Essa praga é constituída por besouros com cabeça de coloração castanha, tórax e abdome verde e manchas elípticas amarelas nos élitros (GOMES, 2021).

Em segundo lugar, destacou-se a presença do percevejo-marrom (*Euschistos heros*) da família pentatomidae (Figura 11.B e 11.C). Esse percevejo apresenta uma "meia-lua" branca no final do pronoto e projeções laterais escuras (VIGNAROLI, PUNSCHKE e REYES, 2016).

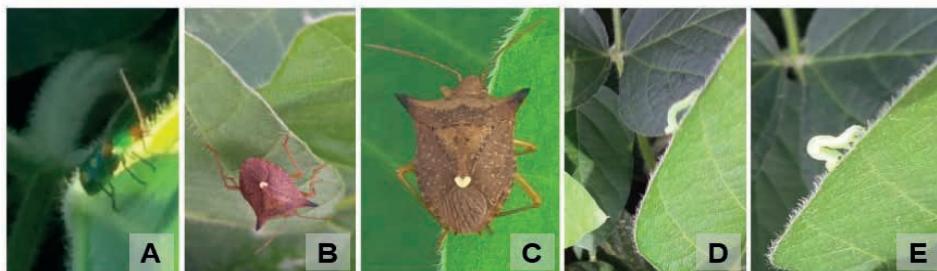



Figura 11. Insetos nas lavouras (A) vaquinha verde-amarela (*Diabrotica speciosa*); (B e C) percevejo-marrom (*Euschistos heros*); (D e E) lagarta falsa-medideira (*Pseudoplusia includens*). Fonte: MATIUSSI, (2022).

De forma menos expressiva também foi observado a presença da lagarta-falsa-medideira (*Pseudoplusia includens*), (Figura 11.D e 11.E). Esta lagarta apresenta um movimento característico conhecido como mede-palmo, assim como o hábito de se alimentar apenas do limbo foliar e deixar as nervuras (MOREIRA; ARAGÃO, 2009). Atualmente é a praga de maior importância da cultura, porém foram encontradas apenas em pontos isolados.

## 4 I CONCLUSÃO

A experiência a campo do acompanhamento fitossanitário da soja, desde os primeiros estádios fenológicos até o enchimento de grãos permitiu observar contrastes entre o conhecimento teórico e prático, como o problema de plantas daninhas ser narrado como o principal obstáculo à produção da cultura e não a ferrugem asiática, o que seria o mais previsível.

A prática profissional do engenheiro agrônomo está em constante transformação, visto que as situações encontradas a campo exigem novas estratégias de manejo, o que pode ser verificado nas ações desenvolvidas frente à resistência de plantas daninhas aos herbicidas.

## REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

AGRO TECH INSUMOS AGRÍCOLAS LTDA. Disponível em: https://web.facebook.com/Agrotechmarialva. Acesso em: 18 dez. 2023.

ALMEIDA, M. L.; MEROTTO JUNIOR, A.; SANGOI, L. et al. Incremento na densidade de plantas: uma alternativa para aumentar o rendimento de grãos de milho em regiões de curta estação estival de crescimento. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 23-29, 2000.

BARCELLOS, T. **O você precisa entender sobre o encarquilhamento da soja**. Porto Alegre: Blog da AEGRO, 2021. Disponível em: https://blog.aegro.com.br/encarquilhamento-da-soja/. Acesso em: 18 fev. 2023.

CASTRO, E. B.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. et al. Deposição da calda e eficácia de controle de glyphosate e saflufenacil associados a adjuvantes. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.16, n.2, p.103-111, 2017.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA (CEPEA). **Efeito do não tratamento de pragas e doenças sobre preços ao consumidor de produtos da cadeia produtiva de soja**. Piracicaba, 2019, 8p. Disponível em:https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_EstudoPragaseDoencas_Parte%203.pdf. Acesso em: 19 fev. 2023.

COMITÊ DE AÇÃO A RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS (FRAC-BR). **Modo de Ação de Fungicidas.** 2022a. Disponível em: https://www.frac-br.org/modo-de-acao. Acesso em: 11 fev. 2023.

COMITÊ DE AÇÃO A RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS (FRAC-BR). **Novas recomendações para o manejo da ferrugem asiática da soja.** 2022b. Disponível em: https://www.frac-br.org/soja. Acesso em: 11 fev. 2023.

COMITÊ DE AÇÃO A RESISTÊNCIA AOS HERBICIDAS (HRAC-BR). **Mecanismos de ação.** 2022. Disponível em: https://www.hrac-br.org/mecanismosdeacao. Acesso em: 27 nov. 2022.

CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; OLIVEIRA NETO, A. M. **Buva:** Fundamentos e recomendações para manejo. Curitiba: Omnipax, 2013, 104p.

COSTA, P. H. S. M. **Dessecação de *Conyza* spp. em pré-plantio da cultura da soja através de aplicações sequenciais de herbicidas**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agronômica), Universidade Federal da Grande Dourados - Faculdade de Ciências Agrarias, Dourados, 2021.

GARCIA, A. **Fungicidas I**: sua utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. Folhetos. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 1999.

GAZZIERO, D. L. P.; VOLL, E.; ADEGAS, F. S. et al. **Períodos de convivência entre plantas daninhas e a cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2021.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C. et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2021/2022**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. CIRCULAR TÉCNICA 187. Londrina: Embrapa Soja, 2022.

GOMES, D. R. S. **Vaquinhas**. Londrina-PR: Embrapa Soja, 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/producao/manejo-integrado-de-pragas/pragas/pragas-que-atacam-folhas. Acesso em: 14 nov. 2023.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V. et al. **Manual de identificação de doenças de soja** - 5 ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014. Documento 256.

INSTITUTO DAS ÁGUAS E TERRA DO PARANÁ - IAT. **Sistema de informações hidrológicas** - relatório de alturas diárias de precipitação. Curitiba: Instituto Água e Terra, 2022.

LOCATELLI, V. E. R.; MEDEIROS, R. D.; SMIDERLE, O. J. et al. Desenvolvimento vegetativo de cultivares de feijão-caupi sob lâminas de irrigação no cerrado roraimense. **Revista Irriga**, Edição Especial, Grandes Culturas, p. 28-39, 2016.

MOREIRA, H. J. C. **Manual de identificação de plantas infestantes**: hortifrúti. São Paulo: FMC Agricultural Products, 2011.

MOREIRA, H. J. C.; ARAGÃO, F. D. **Manual de Pragas da Soja**. Campinas, 2009. 144p.

NARDI FILHO, W. **Produtividade de soja e trigo em função de manejos de plantas daninhas em pós-emergência e da dessecação em pré-colheita**. 2013. 54f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Área de Concentração: Agricultura), Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2013.

OLIVEIRA JR, R.S; CONSTANTIN, J; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnnipax, 2011. 348 p.

PELIN, C.; WORDELL FILHO, J. A.; NESI, C. N. Ferrugem asiática da soja: etiologia e controle. **Agropecuária catarinense**, v.33, n.3, p.18-21, 2020.

PREFEITURA MUNICIPAL DE MARIALVA. **Lei Ordinária nº 1866/1996 de 12/12/1996**. Disponível em: https://www.legislador.com.br//LegisladorWEB.ASP?WCI=LeiTexto&ID=17&inEspecieLei=1&nrLei=1866&aaLei=1996. Acesso em: 10 fev. 2023.

PREFEITURA MUNICIPAL DE MARIALVA. **Lei Ordinária nº Lei nº 2575/2022 de 29 de novembro de 2022**. Disponível em: https://www.legislador.com.br//ad/326830662_1_17_1_6_41_2022_1_0_0_1.pdf. Acesso em: 26 fev. 2023.

RICHETTI, A.; PEZARICO, C. R.; CECCON, G. et al. **Relatório de avaliação de impactos – tecnologia**: Consórcio milho com braquiária. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2019.

SILVA, A. F. M. **Buva (*Conyza sumatrensis*) com resistência à herbicidas na região oeste do estado do Paraná.** Palotina: Grupo de Pesquisa em Sistemas Sustentáveis de Produção Agrícola (Supra). Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2018.

SIQUEIRA, A. P. P.; SIQUEIRA, M. F. B. **Bokashi**: adubo orgânico fermentado Manual técnico. Niterói: Programa Rio Rural, 2013. 16p. Disponível em: https://www.bibliotecaagptea.org.br/agricultura/adubacao/livros/BOKASHI%20-%20ADUBO%20ORGANICO%20FERMENTADO.pdf. Acesso em: 29 jan. 2023.

VIGNAROLI, L.; PUNSCHKE, E.; REYES, V. Novedades de plagas en soja Zavalla – Santa Fe, Argentina. **Revista Agromensajes**, v. 44, p.36-43, 2016.

# CAPÍTULO 8

# EVALUACIÓN DE LA MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EXTRAÍDOS DE CORONTA DE MAÍZ MORADO (*Zea mays L.*) EN MATRICES DE MALTODEXTRINA Y GOMA DE TARA

*Data de submissão: 08/12/2023* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Isaías Ramos Quispe**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0003-1700-1475

**Carlos A. Ligarda-Samanez**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0001-7519-8355

**David Juan Ramos Huallpartupa**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0001-9223-2375

**Elibet Moscoso-Moscoso**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0002-0546-4504

**David Choque-Quispe**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0003-4002-7526

**Henry Palomino-Rincón**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0002-4174-9961

**Betsy Suri Ramos-Pacheco**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0002-0286-0632

**Dianeth Buleje Campos**
Universidad Nacional José María Arguedas
Andahuaylas-Perú
https://orcid.org/0000-0002-3060-6076

**RESUMEN:** La coronta del maíz morado es un subproducto agroindustrial rico en antocianinas, fenoles, flavonoides y compuestos antioxidantes. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la microencapsulación de compuestos bioactivos extraídos de corontas de maíz morado *(Zea mays L.),* utilizando matrices de maltodextrina y goma de tara. Para lo cual, se recolectaron maíces morados de la provincia de Andahuaylas y se seleccionaron las corontas. Luego, estas

corontas fueron molidas, a partir del material molido se realizó una extracción por maceración seguida de la sonicación para obtener los extractos con los compuestos bioactivos de interés. Finalmente, estos extractos fueron microencapsulados por secado por aspersión empleando distintas concentraciones de los agentes encapsulantes mencionados. Los compuestos bioactivos microencapsulados presentaron compuestos fenólicos totales entre 10.06 a 10.63 mg AGE/g; flavonoides totales de 1.26 a 1.60 mg quercetina/g; antocianinas totales de 0.20 hasta 0.30 mg/100g; capacidad antioxidante de 249.40 a 356.76 µmol Trolox equivalente/g. La temperatura de encapsulación influyó en las propiedades del color. La humedad de los microencapsulados varió entre 7.19 a 8.17%, la higroscopicidad de 7.47 a 8.09%, la solubilidad entre 78.35 a 87.37 %, y la actividad de agua registró valores de 0.29 a 0.32. Se concluye que el tratamiento T2 presentó propiedades físicas apropiadas y óptimas en comparación con los demás tratamientos, a la vez que contiene los mayores niveles de compuestos bioactivos entre todos los microencapsulados obtenidos.
**PALABRAS CLAVE:** microencapsulación, fenoles, flavonoides, antocianinas, capacidad antioxidante

**ABSTRACT**: The crown of purple corn is an agroindustrial byproduct rich in anthocyanins, phenols, flavonoids, and antioxidant compounds. The present study aimed to evaluate the microencapsulation of bioactive compounds extracted from purple corn (Zea mays L.) crowns using maltodextrin and tara gum matrices. For this purpose, purple corn was collected from the province of Andahuaylas, and the crowns were selected. Then, these crowns were ground, and from the ground material, extraction was carried out by maceration followed by sonication to obtain the extracts with the bioactive compounds of interest. Finally, these extracts were microencapsulated by spray drying using different concentrations of the aforementioned encapsulating agents. The microencapsulated bioactive compounds presented total phenolic compounds between 10.06 to 10.63 mg AGE/g; total flavonoids from 1.26 to 1.60 mg quercetin/g; total anthocyanins from 0.20 to 0.30 mg/100g; antioxidant capacity from 249.40 to 356.76 µmol Trolox equivalent/g. The encapsulation temperature influenced the color properties. The humidity of the microencapsulates varied between 7.19 to 8.17%, the hygroscopicity from 7.47 to 8.09%, the solubility between 78.35 to 87.37%, and the water activity recorded values of 0.29 to 0.32. It is concluded that treatment T2 presented appropriate and optimal physical properties compared to the other treatments while containing the highest levels of bioactive compounds among all the microencapsulates obtained.
**KEYWORDS:** microencapsulation, phenols, flavonoids, anthocyanins, antioxidant capacity

## 1 | INTRODUCCIÓN

En el Perú, durante miles de años se ha cultivado el maíz morado, que es una de las fuentes más ricas de compuestos bioactivos. El maíz morado es el ingrediente de los famosos postres peruanos, como la mazamorra morada y la chicha morada. Este alimento ha sido utilizado desde tiempos preincaicos y ha sido representado en diferentes objetos de cerámica de la cultura Moche, que datan de hace más de 2500 años.

El principio del colorante del maíz morado se basa en la presencia de la antocianina, un metabolito que se ha demostrado se encuentra en mayor proporción en la coronta del

maíz y en menores cantidades en la cáscara de los granos. Hoy en día, surge la necesidad de poder realizar el estudio de los compuestos bioactivos presentes en diversas fuentes alimentarias y su importancia en la salud humana (Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos - INTA). Se realizó la evaluación de la microencapsulación de compuestos bioactivos extraídos a partir de la coronta del maíz morado (*Zea mays L.*), estudiándose la humedad, actividad de agua, higroscopicidad, color, solubilidad, así como también el contenido de antocianinas, fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante.

## 2 | MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Extracción de compuestos bioactivos de la coronta de maíz morado y microencapsulación

La microencapsulación de compuestos bioactivos de la coronta de maíz morado se llevó a cabo de acuerdo con la metodología propuesta por Riera (2020). Después de obtener el extracto, este se concentró en una estufa al vacío a una temperatura de 20 °C y una presión de 10 mbar, donde la circulación de agua permaneció constante y conectada al vacío. Una vez alcanzada la cantidad deseada de concentrado, se procedió a medir el volumen y posteriormente se almacenó en refrigeración a 4 °C en frascos de vidrio ámbar.

Para la microencapsulación, se empleó una mezcla de maltodextrina y goma de tara, con un total de 4 tratamientos. En los tratamientos T1 y T2, se utilizó un 6 % de encapsulante, mientras que en los tratamientos T3 y T4, fue del 10 %. El proceso se llevó a cabo en un Mini Spray Dryer B-290 (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Suiza) alimentando el equipo con las soluciones previamente preparadas. Para garantizar la microencapsulación de los compuestos bioactivos, se verificó la presión del equipo y la temperatura de entrada para cada tratamiento: T1 (120 ºC), T2 (150 ºC), T3 (120 ºC) y T4 (150 ºC); además, se controló el flujo de aire. Todos los parámetros fueron rigurosamente controlados antes de proceder con el secado. Una vez obtenidos los microencapsulados se almacenaron hasta su posterior análisis.

#### *2.1.1 Color*

Se tomó 1g de los encapsulados luego colocó en pequeñas placas transparentes y se puso en el fotodetector del colorímetro modelo CR-5 (Konica Minolta, Tokio, Japón), previamente calibrado, y seguidamente se realizó las lecturas correspondientes para cada tratamiento finalmente se anotó los valores reportados; donde los parámetros de color fueron, L (luminosidad) (desde 0 negro a 100 blanco), croma a* (rojo+, verde-) y croma b* (azul-, amarillo+).

### 2.1.2 Humedad

Se pesó 0.2 g de los microencapsulados para cada tratamiento, luego se colocaron en una luna de reloj a 105 ºC en una estufa de convección forzada FED 115 (BINDER, Tuttlingen, Alemania), hasta alcanzar peso constante. La humedad de los microencapsulados se determinó por secado y diferencia de peso de acuerdo al método 934.06 de la AOAC.

$$\%H_{BS} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100 \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots 01$$

*$\%H_{BS}$ = Porcentaje de humedad en base húmeda; $m_1$= masa inicial; $m_2$ = masa final.*

### 2.1.3 Higroscopicidad

Se pesó 0.2 g de los microencapsulados para cada tratamiento, luego se colocaron en placas Petri a 22 °C, que se introdujeron en una cámara que contenía una solución saturada de NaCl (75.4 % de humedad relativa). Después de 7 días se pesaron las muestras. Finalmente se expresaron los resultados como gramos de humedad por 100 g de sólidos secos (g /100 g) (Cai y Corke, 2000; Ersus y Yurdagel, 2007).

$$Higroscopicidad = \frac{Peso\ saturado - peso\ seco}{Peso\ seco} * 100 \ldots\ldots\ldots\ldots .02$$

### 2.1.4 Solubilidad

Para la solubilidad a 40 mL de agua ultra pura se añadió 0.2 g de polvo, después se agitó con la ayuda de un vortex hasta solubilizar toda la muestra, para posteriormente ser centrifugada a 3000 rpm durante 10 min.

Después se tomó el sobrenadante y se pesó en placas de Petri, finalmente se realizó el secado de la muestra en una estufa FED 115 (BINDER, Tuttlingen, Alemania) a 105 ºC por 5 h. La solubilidad (%) fue calculada por diferencia de peso. (Ochoa et al., 2011)

### 2.1.5 Actividad de agua (Aw)

Se determinó la actividad de agua empleando el determinador de actividad de agua, modelo HygroPalm23-AW (marca Rotronic, Bassersdorf, Suiza)

### 2.1.6 Preparación de extracto metanólico

Los extractos metanólicos se prepararon con 0.5 g de la muestra y 20 mL de metanol al 80 %, se protegieron en la oscuridad y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 24 h.

### 2.1.7 Determinación de polifenoles totales

Se realizó una mezcla con un volumen de 900 $\mu$L del extracto metanólico y 150 $\mu$L

de $Na_2CO_3$ al 20% con 300 μL del reactivo Folin-Ciocalteu 0.25 N.

Posteriormente se dejó reaccionar durante 10 min en condiciones de oscuridad a una temperatura ambiente. De la misma manera se preparó un blanco con las mismas condiciones utilizando agua ultra pura en lugar del extracto.

Las lecturas de absorbancia se tomaron a 755 nm (Genesys 150, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) y los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (GAE)/g de muestra seca.

### *2.1.8 Flavonoides Totales*

Se dejó reaccionar durante 10 minutos, 90 µL del extracto metanólico, 1910 µL de metanol al 80%, 100 µL de $AlCl_2$ al 5% y 2900 µL de metanol al 80%. Se utilizó quercetina para la curva de calibración. Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 425 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

### *2.1.9 Antocianinas totales*

Se utilizó el método de pH diferencial de Giusti y Wrolstad, para lo cual se prepararon extractos etanólicos empleando 20 mL del solvente para poder realizar la extracción a concentraciones (95% etanol y 1% HCl) y 0.5 g de la muestra, dejándola reaccionar por 24 h, posterior a eso se realizaron las lecturas correspondientes en un espectrofotómetro (Genesys 150, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

### *2.1.10 Capacidad antioxidante mediante técnica DPPH.*

Se preparó la solución madre de DPPH disolviendo 12 mg de DPPH en 50 ml de metanol al 80%. Esta solución se almacenó en un frasco ámbar a 20 °C por un tiempo de 24 horas. Se dejó temperar la solución madre hasta alcanzar la temperatura ambiente y se preparó la solución diluida de DPPH hasta alcanzar una absorbancia de 1.1 0.02 a una longitud de onda 515 nm. Con una micro pipeta se tomó 150 μL de extracto de la muestra y se le adicionó 2850 μL de la solución madre de DPPH diluida en un tubo de ensayo protegido de la luz en este caso el blanco se utilizó metanol al 80% y se dejó reaccionar durante 15 minutos. Se utilizó trolox para la curva de calibración. Las lecturas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

# 3 I RESULTADOS Y DISCUSIONES

## 3.1 Compuestos bioactivos

### *3.1.1 Fenoles y flavonoides totales*

Los resultados de compuestos fenólicos (Tabla 1) presentaron diferentes valores debido al efecto ocasionado por la temperatura de entrada y la concentración del encapsulante en los microencapsulados. Los valores de fenoles totales en cada tratamiento estuvieron entre 10.63 mg AGE/g de muestra (T1) y 10.35 mg AGE/g de muestra (T4). Los tratamientos T1 y T2 presentaron los mayores contenidos de fenoles totales. Mientras que los valores de los flavonoides totales en cada tratamiento estuvieron entre 1.26 a 1.59 mg de quercetina/g de muestra (b.s). Los tratamientos T1 y T2 presentaron los mayores contenidos de flavonoides totales. En resumen, bajo ciertas condiciones de temperatura y concentración de encapsulante se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de flavonoides totales.

| Tratamientos | Contenido de fenoles totales (mg AGE/g muestra) | | | Contenido de flavonoides totales (mg quercetina/g muestra) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | x̄ | ± | s | x̄ | ± | s |
| T1 (6%, 120ºC) | 10.63 | ± | 0.14 | 1.57 | ± | 0.07 |
| T2 (6%, 150ºC) | 10.66 | ± | 0.03 | 1.60 | ± | 0.03 |
| T3 (10% 120ºC) | 10.06 | ± | 0.14 | 1.26 | ± | 0.13 |
| T4 (10% 150ºC) | 10.35 | ± | 0.43 | 1.26 | ± | 0.06 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 1. Contenido de fenoles y flavonoides totales.

Los resultados reportados fueron menores con otros estudios, quienes reportaron niveles de fenoles totales de 67.9 µg EAG/mg (Ccaccya et al., 2019) y 33.2 mg AGE/g (Doroteo et al., 2013), estas variaciones estarían relacionadas a diversos factores, como son el método de extracción, el tipo de maíz, el tipo solvente que diferencian los valores de fenoles totales obtenidos durante la extracción.

En cuanto a los flavonoides Ccaccya (2020), reportó valores de 3.09 mg Equivalente Quercetina/g, mientras que Navarro et al., (2018), obtuvieron mayores valores de flavonoides (187 mg Quercetina/100 g), quienes emplearon una extracción secuencial en extractor de lecho fijo utilizando $CO_2$ supercrítico. Por otro lado, Ramos et al. (2012), obtuvieron valores de 1.15 y 2.66 (g Equivalente Rutin/kg) empleando HCl al 1% durante la extracción, dichos valores son similares a los reportados en esta investigación.

La Figura 1 indica que a mayor temperatura y menor contenido de encapsulante el contenido de flavonoides y fenoles totales aumenta.

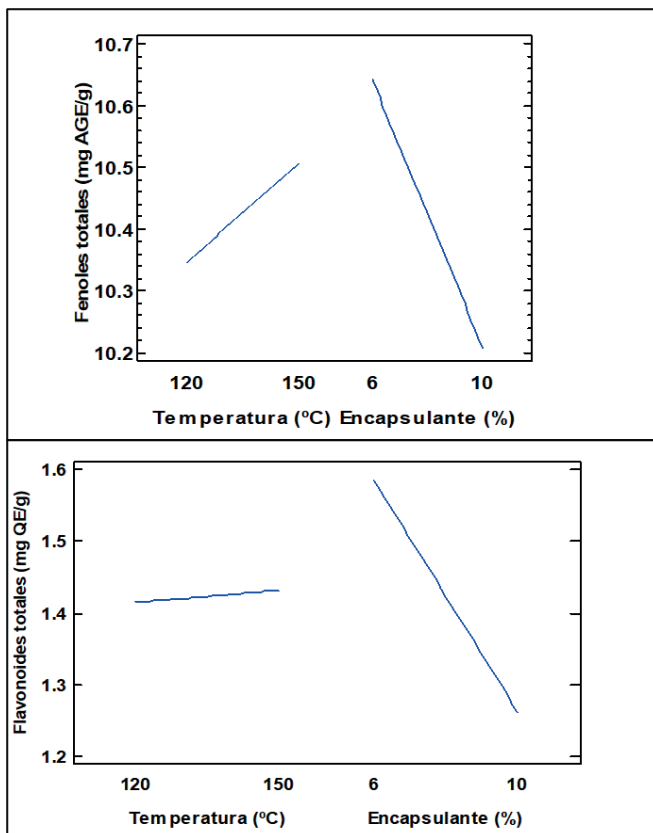



Figura 1. Efectos principales para flavonoides y fenoles totales.

### *3.1.2 Contenido de Antocianinas y capacidad antioxidante*

Los valores del contenido de antocianinas totales estuvieron entre (T1) 0.25 a (T4) 0.30mg de cianidina-3-glucósido/g de muestra (b.s) en cada tratamiento, el T4 presenta mayor contenido de antocianinas. Mientras que los valores de la capacidad antioxidante oscilaron entre 192.88 μmol de Trolox equivalente/g a 311.4 μmol de Trolox equivalente/g. El tratamiento T1 presento la mayor capacidad antioxidante.

Reportes similares fueron reportados por Ramos et al., (2012) con valores de 0.88 g de cianidina-3-glucosido /kg.

Según Doroteo et al. (2013), utilizaron la técnica de DPPH para evaluar la capacidad antioxidante del maíz morado, logrando un resultado del 28.9%. En investigaciones adicionales, Sánchez (2019) señala que a medida que se incrementa la adición de fructano (como pared encapsulante), se observa una disminución en la actividad antioxidante de los polvos, con valores que varían de 39.84 a 30.57 *μ*mol TE/g. Resultados similares fueron informados por Ahmed et al. (2010), quienes encontraron una reducción en la actividad antioxidante de los polvos encapsulados con mayores concentraciones de ácido ascórbico

y maltodextrina como portadores

| Tratamientos | Contenido de antocianinas totales (mg C3G/g muestra) | | | Capacidad antioxidante (μmol ET/g muestra) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | x̄ | ± | s | x̄ | ± | s |
| T1 (6%, 120ºC) | 0.25 | ± | 0.01 | 311.40 | ± | 19.13 |
| T2 (6%, 150ºC) | 0.28 | ± | 0.02 | 287.54 | ± | 31.18 |
| T3 (10% 120ºC) | 0.20 | ± | 0.00 | 192.88 | ± | 32.78 |
| T4 (10% 150ºC) | 0.30 | ± | 0.21 | 260.88 | ± | 11.85 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 2. Contenido antocianinas y capacidad antioxidante.

La Figura 2 indica que a mayor temperatura y menor contenido de encapsulante los niveles de antocianinas totales son mayores y se aumenta la capacidad antioxidnate.

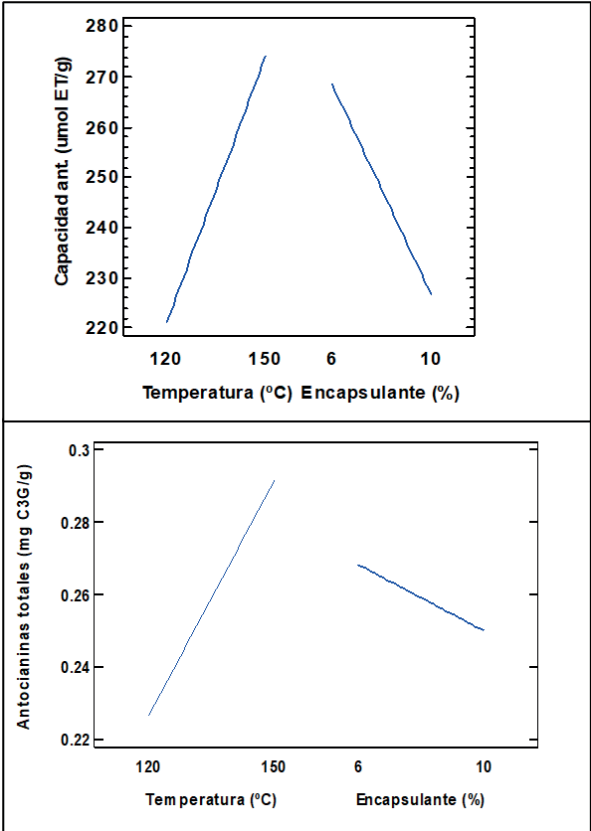



Figura 2. Efectos principales de antocianinas y capacidad antioxidante.

## 3.2 Propiedades de los microencapsulados

### *3.2.1 Color*

En la Tabla 3 se muestra el color de los microencapsulados, los valores de luminosidad (L*), croma a* y croma b* respectivamente para cada tratamiento, los valores de L* oscialron entre 77.90 a 90.08 que indica una tendencia a blanco. El T1, presentó la menor luminosidad y coloración cercana a blanco. Los valores de a* oscilaron entre 3.21 a 4.05, indicando tendencias al color rojo, los valores altos fueron para T1 y T2. Los valores para croma b* oscilaron entre -3.05 a -2.56 mostrando tendencia al color azul. Los valores altos fuero para los tratamientos T1 y T2 seguido de los tratamientos T3 y T4.

| Tratamientos | Luminosidad (L*) | | | Croma a* | | | Croma b* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | x̄ | ± | s | x̄ | ± | s | x̄ | ± | s |
| T1 (6%, 120ºC) | 78.20 | ± | 0.12 | 4.05 | ± | 0.04 | -3.05 | ± | 0.00 |
| T2 (6%, 150ºC) | 77.90 | ± | 0.24 | 4.21 | ± | 0.09 | -2.99 | ± | 0.00 |
| T3 (10% 120ºC) | 80.08 | ± | 0.52 | 3.61 | ± | 0.08 | -2.56 | ± | 0.01 |
| T4 (10% 150ºC) | 78.55 | ± | 0.58 | 3.21 | ± | 0.08 | -2.59 | ± | 0.02 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 3. Color de los microencapsulados.

Según Wie et al. (2023), llevaron a cabo un análisis de color de los microencapsulados de maíz morado donde, obtuvieron valores de 53.95 y 65.42 para L* dichos valores se asemejan a los datos obtenidos en esta investigación, asimismo, reportaron niveles de 24.48, 25.33 y 28.09 para croma a* los cuales difieren con los resultados, estas variaciones podrían deberse al tipo de material encapsulante, en vista de que emplearon la combinación de maltodextrina y la goma arábica. Por su parte, Sánchez et al., (2019), reportaron niveles altos de croma a* (36.25 y 36.26), empleando como agente encapsulante el fructato de agave (pared encapsulante) en un 6 y 10% de concentración, se puede ver que los valores son diferentes de acuerdo a los resultados obtenidos.

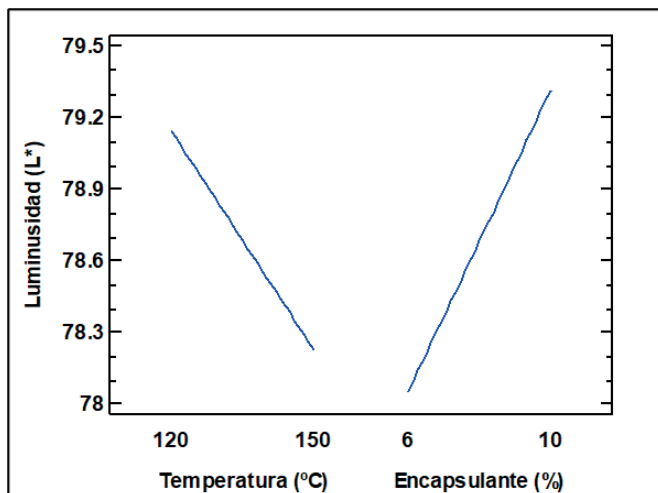



Figura 3. Efectos principales del color (luminosidad).

Respecto al croma b*, Mendoza et al. (2016), obtuvieron valores de 6.16 con maltodextrina como agente encapsulante a una temperatura de entrada de 120 **°C**, este valor fue relativamente a mayor a lo reportado en el presente el cual podría estar afectado por el tipo de encapsulante.

La Figura 3 muestra que a una menor temperatura y a mayor contenido de encapsulante se mejora la luminosidad.

### *3.2.2 Humedad*

El contenido de humedad se presenta en la Tabla 4, los valores oscilaron entre 7.19% a 8.17%, el tratamiento T4 presentó el porcentaje más bajo, mientras que T1 el nivel más alto de humedad.

| **Tratamiento** | **Humedad (%)** | | |
|---|---|---|---|
| | **x̄** | **±** | **s** |
| T1 (6%, 120ºC) | 8.17 | ± | 0.33 |
| T2 (6%, 150ºC) | 7.20 | ± | 0.21 |
| T3 (10% 120ºC) | 7.43 | ± | 0.84 |
| T4 (10% 150ºC) | 7.19 | ± | 0.47 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 4. Humedad de los microencapsulados.

Mendoza et al., (2016) en su trabajo reportaron valores de humedad de los microencapsulados del maíz morado valores entre 6.07 a 9.63%. Jiménez (2017), reporto el contenido de humedad de los microencapsulados de pericarpio de xkijit *(Renealmia*

*alpinia)* niveles entre 2.06% a 2.47%, los valores fueron relativamente bajos, sin embargo, sin tener diferencias entre los agentes que conformaban la pared, se observó una buena transferencia de calor y evaporación del agua del recubrimiento durante el proceso.

La Figura 4 indica que a una mayor temperatura y mayor contenido de encapsulante se reduce el contenido de humedad.

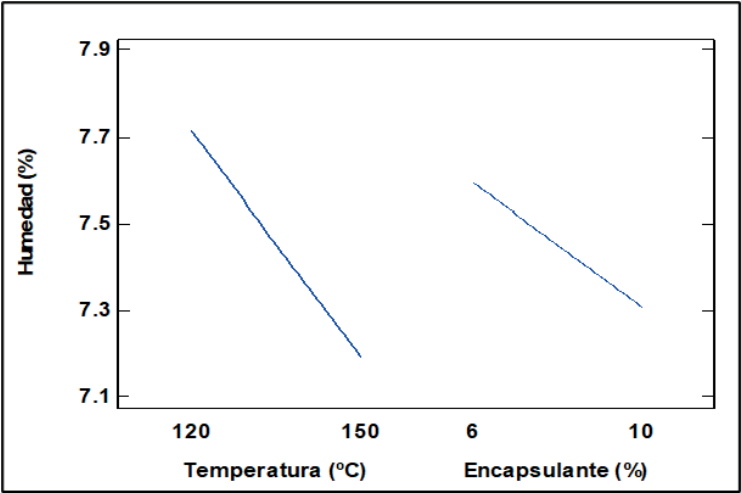



Figura 4. Efectos principales de la humedad.

### *3.2.3 Higroscopicidad*

Los resultados se presentan en la Tabla 5, los valores de la higroscopicidad se encontraron entre 7.47 % (T4) a 8.10 % (T1), el T1 presentó mayor % de higroscopicidad. Resultados similares fueron reportados por Wei et al. (2023), para compuestos bioactivos de la coronta de maíz morado (6.08 y 9.56 gramos/100 gramos).

| Tratamientos | Higroscopicidad (%) | | |
|---|---|---|---|
| | x̄ | ± | s |
| T1 (6%, 120ºC) | 8.10 | ± | 0.03 |
| T2 (6%, 150ºC) | 7.96 | ± | 0.71 |
| T3 (10% 120ºC) | 7.68 | ± | 0.04 |
| T4 (10% 150ºC) | 7.47 | ± | 0.50 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 5. Humedad de los microencapsulados.

Por otro lado, Patil et al., (2014), indica que la adición de maltodextrina puede minimizar adherencia y la higroscopicidad favoreciendo la atomización, ya que reduce de forma significativa la viscosidad lo cual provoca que el tamaño de las gotas sea más grande y como resultado se obtendrán esferas más grandes.

La Figura 5 indica que una mayor temperatura y mayor contenido de encapsulante se reduce significativamente la higroscopicidad.

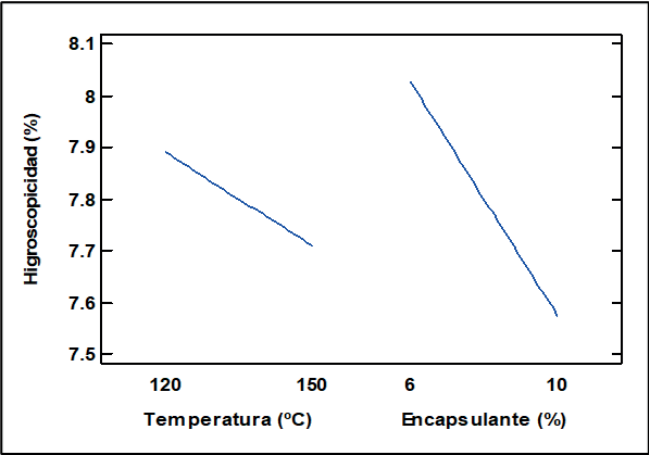



Figura 5. Efectos principales de higroscopicidad.

### *3.2.4 Solubilidad*

Los resultados se presentan en la Tabla 6, los valores de solubilidad se encuentran entre 86.67% (T3) a 78.35% (T4), el T2 presentó mayor % de solubilidad.

Arrazola et al., (2014), evaluaron la solubilidad de los compuestos bioactivos microencapsulado secado por aspersión con 30 % de maltodextrina y 180 °C, los cuales presentaron buenas propiedades físicas tal es el caso de la solubilidad donde reportaron 93.61 %. Deng et al., (2023) en la encapsulación del maíz morado reportaron valores de la solubilidad de los microencapsulados 76.16% y 81.23% similares a los resultados obtenidos. De acuerdo los resultados de la solubilidad, Daza et al., (2016) indica que la goma arábiga y la inulina en cualquier concentración aumentaron la solubilidad, y en mayor grado la goma arábiga.

| **Tratamientos** | **Solubilidad (%)** | | |
|---|---|---|---|
| | **x̄** | **±** | **s** |
| T1 (6%, 120ºC) | 82.52 | ± | 3.18 |
| T2 (6%, 150ºC) | 87.37 | ± | 2.16 |
| T3 (10% 120ºC) | 86.67 | ± | 1.57 |
| T4 (10% 150ºC) | 78.35 | ± | 5.19 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 6. Humedad de los microencapsulados.

La Figura 6 indica que a una menor temperatura y menor contenido de encapsulante la solubilidad se incrementa.

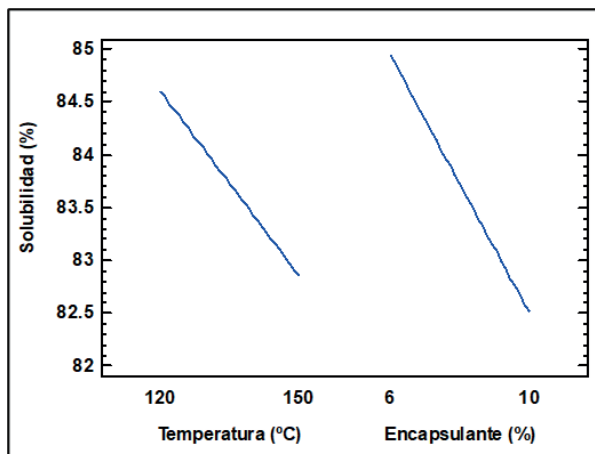



Figura 6. Efectos principales de la solubilidad.

### *3.2.5 Actividad de agua de los microencapsulados*

Los resultados se muestran en la Tabla 7. Los valores de actividad de agua en cada tratamiento variaron entre un máximo de 0.32 (T2) y un mínimo de 0.29 (T4). El T1 presentó la mayor actividad de agua. Los efectos principales indican que la temperatura y concentración del encapsulante influyen independientemente de la actividad del agua.

| **Tratamientos** | **Actividad de agua (Aw)** | | |
|---|---|---|---|
| | **x̄** | **±** | **s** |
| T1 (6%, 120ºC) | 0.32 | ± | 0.00 |
| T2 (6%, 150ºC) | 0.30 | ± | 0.01 |
| T3 (10% 120ºC) | 0.31 | ± | 0.00 |
| T4 (10% 150ºC) | 0.29 | ± | 0.00 |

Donde: x̄ es el promedio muestral; s es la desviación estándar.

Tabla 7. Humedad de los microencapsulados.

Jiménez (2017), reportó valores de 0.261 de actividad de agua de microencapsulados de frutos xkijit *(Renealmia alpinia)*, emplearon maltodextrina como agente encapsulante, este resultado se asemeja al resultado obtenido. Mientras que Wei et al., (2023), reportó valores de 0.34. Mendoza et al., (2016) reportó el valor de 0.38.

Según Cortés-Rojas, (2015), en el secado por aspersión permite obtener niveles bajos de actividad de agua, siendo valores favorables para mantener la estabilidad física, química y microbiológica del producto seco.

La Figura 7 indica que a una mayor temperatura y mayor contenido de encapsulante presenta menor actividad de agua.

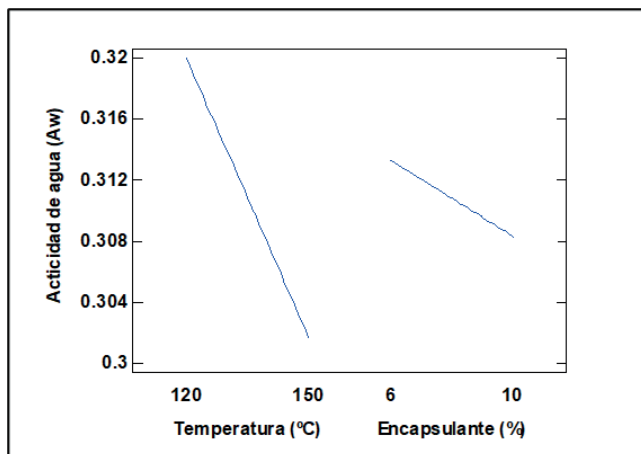



Figura 7. Efectos principales de la solubilidad.

## 4 I CONCLUSIONES

Se logró evaluar los compuestos bioactivos microencapsulados a partir de la coronta de maíz morado en matrices de maltodextrina y goma tara, donde se pudo observar que la temperatura de entrada y la concentración de encapsulante influye en la retención de los compuestos bioactivos de la coronta del maíz morado. El tratamiento que presento las mejores características físicas y mayor contenido de compuestos bioactivos fue T2 (6%, 150ºC).

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional José María Arguedas, al Vicerrectorado de Investigación y al Laboratorio de investigación en Nanotecnología de Alimentos (LINA).

## REFERENCIAS

Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (Solanum melongena L.) mediante secado por aspersión y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. Información tecnológica, 25(3), 31-42

Cortés-Rojas, D., Fernandes, C., & Oliveira, W. (2015). Optimization of spray drying conditions for production of Bidens pilosa L. dried extract. Chemical Engineering Research and Design, 93, 366-376. https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.06.010

Ccaccya, A. M., M. Soberón e I. Arnao. (2019). Estudio comparativo del contenido de compuestos bioactivos y cianidina-3- glucósido del maíz morado *(Zea mays L.)* de tres regiones del Perú. Rev. Soc. Quím. Perú 85: 206-215.doi: https://doi. org/10.37761/rsqp. v85i2.78.

Daza, L., Fujita, A., Fávaro-Trinda, C., Rodrigues-Ract, J., Granato, D., & Genovese, M. (2016). Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (Eugenia dysenterica DC.) fruit extracts. Food and Bioproducts Processing, 97, 20-29. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.10.001

Doroteo, V. H., C. Díaz, C. Terry y R. Rojas (2013). Compuestos fenólicos y actividades antioxidantes in vitro de 6 plantas peruanas. Rev. Soc. Quím. Perú 79: 13-20.

García, C., Gonzalez, L., Ochoa, M., & Medrano, R. (2014). MICROENCAPSULACIÓN DE JUGO DE CEBADA VERDE MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN, 4(4), 262–266.

Jiménez González, Oscar, & OSCAR; (2017). Obtención, evaluación de pigmentos microencapsulados a partir de frutos xkijit (Renealmia alpinia) e incorporación en una matriz alimenticia. Buap.mx; Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/55889e6c-1d9a-4781-9def-0b302d1016c1

Mendoza, A., Mendoza Sillerico, E., Curi Borda, C., Rojas Mercado, V., Alvarado Kirigin, J., & Bello, A. (2016). ENCAPSULATION, CHARACTERIZATION AND THERMAL STABILITY OF ANTHOCYANINS FROM ZEA MAYS L. (PURPLE CORN). Bolivian Journal of Chemistry, 33(5), 183–189. http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202016E%20PDF/5_Anthocyanin_encapsulation_RTP.pdf

Patil, V., Chauhan, A. K., & Singh, R. P., (2014). Optimization of the Spray-drying Process for Developing Guava Powder using Response Surface Methodology. Powder Technolology, 253, 230–236.

Ramos-Escudero, F., Muñoz, A. M., Alvarado-Ortíz, C., Alvarado, Á., & Yáñez, J. A. (2012). Purple Corn (Zea mays L.) Phenolic Compounds Profile and Its Assessment as an Agent Against Oxidative Stress in Isolated Mouse Organs. Journal of Medicinal Food, 15(2), 206–215. doi:10.1089/jmf.2010.0342.

Riera (2020). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de la planta sangorache (Amaranthus quitensis). https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/3140

Sánchez, E., & Castro Vargas, D. (2023). Extracción y cuantificación de Antocianinas de maíz morado (zea mays l.) utilizando dos solventes a diferentes temperaturas y tiempos de extracción. Revista Latinoamericana De Difusión Científica, 5(8), 47-80. https://doi.org/10.38186/difcie.58.04

Wei, D., Li, X., Ren, G., Bu, Q., Ruan, Y., Ye, F., & B, L. (2023). Stability of Purple Corn Anthocyanin Encapsulated by Maltodextrin, and Its Combinations with Gum Arabic and Whey Protein Isolate. Foods, 12(12), 2393–2393. https://doi.org/10.3390/foods12122393

# CAPÍTULO 9

# EVENTO ACADÊMICO - AROMATERAPIA: ASPECTOS BÁSICOS DA EXTRAÇÃO AO USO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

*Data de submissão: 22/12/2023*

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Priscilla Virgínio de Albuquerque**
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/4763179519142393

**Andrezza Santos de Melo**
Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/6498899067980539

**Stefhanie Carmélia Matos Nunes**
Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/1024742716009331

**Gilcifran Prestes de Andrade**
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/8291064936047474

**José Ferreira da Silva Neto**
Escola Estadual Seráfico Ricardo, Limoeiro-PE.
http://lattes.cnpq.br/1097116584108933

**Daniela Maria Bastos de Souza**
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/4856221548369438

**Carolina Jones Ferreira Lima da Silva**
Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).
http://lattes.cnpq.br/8682371867683878

**Jonathan Ferreira Lima da Silva**
http://lattes.cnpq.br/1394381823182634

**Érica Bruna de Andrade Soares**
Departamento de Medicina Veterinária Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/4195345197984173

**Cristiane Maria Varela de Araújo de Castro**
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.
http://lattes.cnpq.br/8181142206633795

**RESUMO:** Desde a antiguidade, o potencial aromático das plantas vem sendo explorado. A aromaterapia é a ciência que estuda a aplicação dos óleos essenciais no tratamento de doenças, assim como na promoção do bem-estar físico, mental e espiritual. Com o avanço das pesquisas e da diversificação do uso dos compostos

botânicos aromáticos, há um crescente mercado consumidor, de forma que, os óleos essenciais são empregados como fonte de renda e já não passam despercebidos entre os produtos exportados pelo Brasil. Dessa forma, foi organizado um evento online, gratuito, na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), cuja temática tratou da história da aromaterapia, a extração, aplicação e comercialização dos óleos essenciais, tendo como público alvo, estudantes de graduação da Universidade em questão, interessados no tema. As abordagens foram feitas a partir de palestras e vídeos apresentados por profissionais atuantes na área. Para demonstrar o processo de obtenção de óleos essenciais, foi feito, previamente, o cultivo hidropônico de hortelã (*Mentha spicata* L.) por 60 a 70 dias. Tendo chegado o tempo da colheita, realizou-se no Laboratório de Farmacologia da UFRPE, a extração do óleo de hortelã através de destilação a vapor, o que também foi feito com a casca da laranja Ponkan (*Citrus reticulata*), devido ao maior rendimento do cítrico quando comparado à verdura. Os inscritos no evento acompanharam as etapas do cultivo hidropônico e da extração dos óleos essenciais através de vídeos gravados com riqueza de detalhes. O evento aconteceu através da plataforma Google Meet e ao final de cada palestra ou vídeo exibido, foram observadas avaliações satisfatórias por parte dos participantes.
**PALAVRAS-CHAVE:** Empreendedorismo; Óleos Essenciais; Propriedades Terapêuticas; Plantas Aromáticas.

## ACADEMIC EVENT - AROMATHERAPY: BASIC ASPECTS FROM EXTRACTION TO THE USE OF ESSENTIAL OILS

**ABSTRACT:** Since ancient times, the aromatic potential of plants has been explored. Aromatherapy is a science that studies the application of essential oils in the treatment of illnesses, as well as in promoting physical, mental and spiritual well-being. With the advancement of research and the diversification of the use of aromatic botanical compounds, there is a growing consumer market, so that essential oils are used as a source of income and no longer go unnoticed among the products exported by Brazil. In this way, a free online event was organized at the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), whose theme dealt with the history of aromatherapy, the extraction, application and commercialization of essential oils, with the target audience being undergraduate students from the University in question, details on the topic. The approaches were made based on lectures and videos presented by professionals working in the area. To demonstrate the process of obtaining essential oils, hydroponic cultivation of mint (*Mentha spicata* L.) was previously carried out for 60 to 70 days. Having reached harvest time, the UFRPE Pharmacology Laboratory removed the mint oil through steam distillation, which was also done with the peel of the Ponkan orange (*Citrus reticulata*), due to the greater yield of the citrus when compared to mint. Those registered for the event followed the stages of hydroponic cultivation and the removal of essential oils through videos recorded in rich detail. The event took place via the Google Meet platform and at the end of each lecture or video shown, they were seen perfectly by the participants.
**KEYWORDS:** Entrepreneurship; Essencial oils; Therapeutic Properties; Aromatic Plants.

## INTRODUÇÃO

A utilização de plantas aromáticas para fins terapêuticos é uma prática antiga (DEANS e WATERMAN, 1993). No entanto, o estabelecimento da aromaterapia como ciência remonta o início do século XX, quando o perfumista francês René Maurice Gattefossé desenvolveu um antisséptico a partir da extração do óleo essencial de lavanda e o composto ganhou notoriedade por sua eficácia durante a gripe espanhola (LICHTINGER, 2006; NASCIMENTO e PRADES, 2020).

O fundamento da aromaterapia é a utilização dos óleos essenciais como forma de promover a melhoria e o equilíbrio físico e emocional do indivíduo (TISSERAND, 2004; LAVABRE, 2018). Uma infinidade de espécies botânicas já foi explorada e já tem comprovadamente suas propriedades aromáticas, medicinais e condimentares descritas (FIGUEIREDO et al., 2014). As plantas fornecem muita matéria natural que quando adotada em alternativa aos produtos sintéticos, costumam superá-los em se tratando de biodegradação e aplicabilidade (FIGUEIREDO et al., 2007).

As características antivirais, antibacterianas, antifúngicas e antissépticas dos óleos essenciais foram as primeiras a se destacarem, todavia, a utilização desses compostos com um perfil holístico se iniciou na década de sessenta, na Inglaterra, através da enfermeira Marguerite Maury, que analisando o temperamento de seus pacientes, traçava um protocolo aromático individualizado a ser aplicado através de massagens (ROSE, 1996; ANDREI, 2005; RHIND, 2012).

Os óleos essenciais são extraídos dos vegetais aromáticos a partir da destilação a vapor ou a seco, ou ainda por processos mecânicos (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2021). E sua utilização costuma ser feita principalmente por via inalatória, mas, o uso tópico e a ingestão também são admitidos, todavia, o consumo dos óleos ainda levanta especulações, sobretudo no Brasil (PEDROSA e PORFIRIO, 2020).

Com o advento de novas pesquisas, que ampliaram a lista de funcionalidades dos óleos essenciais, a aromaterapia foi alcançando áreas voltadas para o bem-estar humano, cada vez mais diversas, de modo que, pode ser classificada em psicoaromaterapia, aromaterapia estética, holística e clínica (TISSERAND, 2004). A psicoaromaterapia relaciona-se ao acesso ao inconsciente, ao efeito psicológico da essência (FORTUNA, 2010; 2014). A aromaterapia em seu viés estético permeia a sua utilização em serviços e produtos de beleza. Na visão holística, os óleos são utilizados em diversas práticas a fim de promover o físico, o espírito e a mente, enquanto que, a aromaterapia clínica caracteriza-se pela ingestão de compostos aromáticos, bem como, sua administração na pele e mucosas (BUCKLE, 2010; OLIVEIRA e SARMENTO, 2019).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) se posiciona de forma afirmativa a incorporação das práticas de medicinas complementares nos sistemas nacionais de saúde. No Brasil, a aromaterapia é utilizada no Sistema Único de Saúde (SUS), de forma

integrativa e complementar, tendo uma ampla frente de atuações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Do ponto de vista econômico, a comercialização dos óleos essenciais e seus produtos derivados vêm crescendo e se tornando um recurso gerador de fonte de renda, diante de um mercado consumidor cada vez mais receptivo (CANDAN et al., 2003; SACCHETTI et al., 2005). Todavia, Lyra (2010) atenta para a importância de formações e estudos aprofundados e sérios, para que as essências sejam utilizadas de forma assertiva e eficaz, preservando a segurança do usuário.

O Brasil merece destaque na produção de óleos essenciais, despontando como grande fornecedor para os Estados Unidos e a União Europeia (BIZZO et al., 2009). Dentre os compostos mais exportados estão o óleo de laranja, seguido pelos óleos de outros cítricos, como o limão siciliano (BIZZO e REZENDE, 2022). Mesmo com a rica biodiversidade nacional, algumas espécies introduzidas têm o seu potencial aromático bem explorado e muito utilizado no país, é o caso da hortelã (*Mentha spicata* L.), cuja origem é europeia, mas se adaptou bem ao clima tropical (CHOUDHURY et al., 2006; FEITOSA et al., 2014). Suas propriedades aromáticas incluem estimulantes digestivos, cardiotônicos, antiespasmódicos e antissépticos, sendo corriqueiramente utilizado para auxiliar no tratamento de gastrite, cólicas, reumatismo, flatulência, vômitos e palpitações (BIESK, 2005; ERTEKIN e HEYBELI, 2014).

Com a elevada expansão da utilização dos óleos essenciais em alternativa as práticas médicas tradicionais e como fonte geradora de renda, mediante uma exploração crescente das propriedades aromáticas dos vegetais, foi organizado um evento online, gratuito, sobre aromaterapia, abordando as características básicas da extração e aplicação dos óleos essenciais, a fim de agregar conhecimentos e novas perspectivas aos graduandos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), assim como, contribuir para que os compostos aromáticos não sejam utilizados de forma errônea e leviana.

## METODOLOGIA

Foi feito previamente o cultivo de hortelã em pequena escala, numa área pouco movimentada do Pavilhão de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA/UFRPE), Campus Sede. As mudas foram regadas através de um sistema hidropônico, tendo em vista que, Ocampos et al. (2002), ao avaliarem o cultivo da hortelã através de diferentes métodos de produção, constataram um maior rendimento de óleos essenciais nas culturas regadas por hidroponia, o que também se aplica a outras espécies botânicas. A hortelã foi colhida entre 60 e 70 dias, baseado nas recomendações de Czepack (1998), o qual observou uma maior concentração dos compostos aromáticos neste intervalo de tempo.

O cultivo se deu num protótipo produzido a partir de cano de PVC 100mm, no qual foram feitas cinco aberturas circulares, onde foram acondicionados recipientes de plástico

furados no fundo. Em cada recipiente foi colocado espuma fenólica e uma muda enraizada de hortelã. Uma das extremidades do protótipo foi acoplada numa mangueira ligada a uma bomba de aquário imersa em um reservatório com capacidade para 10 litros, contendo água acrescida de nutrientes para hidroponia. Na outra extremidade, foi colocada uma torneira, na qual foi encaixada uma mangueira que se estendeu até o reservatório que continha à água nutritiva, formando, desse modo, um sistema fechado, com o líquido sendo bombeado para o interior do protótipo, molhando as raízes e as espumas fenólicas, responsáveis por auxiliar no bom desenvolvimento das mudas. Estando a torneira sempre aberta, o líquido ao passar pelo protótipo escorria através da mangueira de volta para o reservatório, num processo contínuo (Figura 1). O cultivo recebeu de três a quatro horas de sol por dia e a solução nutritiva foi complementada diariamente, sendo todo o sistema lavado e toda solução trocada a cada mês.

Figura 1. Cultivo hidropônico em pequena escala. **A.** Protótipo para hidroponia desenvolvido a partir de cano de PVC 100mm acoplado a mangueiras ligadas a um reservatório de solução nutritiva, no qual uma bomba de aquário promove o bombeamento da solução, num sistema fechado e contínuo. **B.** Implantação das mudas de hortelã (*Mentha spicata*) nos recipientes com espuma fenólica. **C.** Desenvolvimento da hortelã.

Em período correspondente a colheita, iniciou-se à inscrição e realização de um evento online, gratuito, cuja temática foi a aromaterapia, tendo a hortelã como espécie botânica escolhida para demonstração da prática de extração de óleos essenciais (Figura 2). O evento aconteceu através da plataforma Google Meet, com inscrições a partir de formulário digital e atendeu alunos de graduação da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sendo dividido em quatro módulos: a história da aromaterapia, o processo de extração de óleos essenciais, a aplicação dos compostos aromáticos e a comercialização dos óleos.

Para a abordagem dos módulos, a história da aromaterapia e a aplicação dos compostos aromáticos foram realizadas palestras a partir de exposições dialogadas

a respeito dos temas, ministradas por profissionais atuantes na área. Para o módulo, o processo de extração de óleos essenciais, foi gravado um vídeo no Laboratório de Farmacologia do DMFA/UFRPE, com riqueza de detalhes, demonstrando os materiais e todos os passos para a obtenção dos óleos através da destilação a vapor. Para proporcionar uma melhor visualização através do vídeo, foi utilizada além de hortelã, a casca da laranja Ponkan (*Citrus reticulata*), em destilações separadas, devido ao maior rendimento do cítrico quando comparado à verdura (Figura 3).

Figura 2. Cartaz de divulgação do evento online, gratuito, sobre aromaterapia, organizado pelo Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMFA/UFRPE).

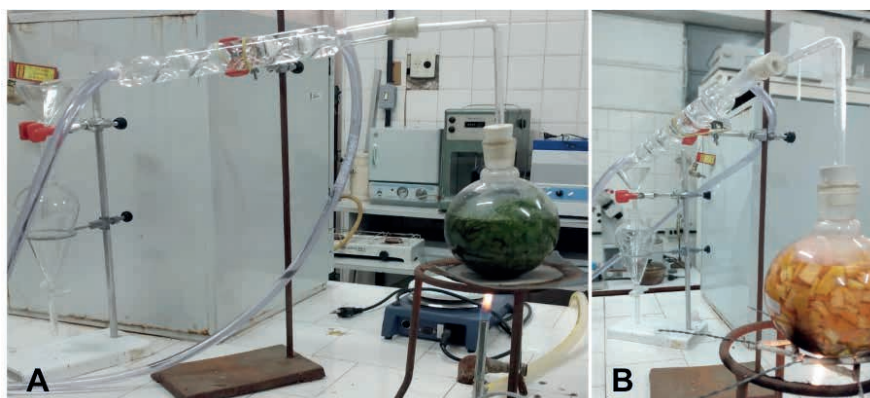



Figura 3. Extração de óleos essenciais através de destilação a vapor. **A.** Processo de extração de óleo de hortelã (*Mentha spicata*). **B.** Processo de extração de óleo da casca laranja Ponkan (*Citrus reticulata*).

No que se refere à comercialização dos óleos, foi preparado um vídeo informativo demonstrando os cursos gratuitos ofertados pelo Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) e os trâmites para cursá-los.

Uma vez concluído cada módulo, através das mensagens enviadas pelo chat, os participantes puderam avaliar o evento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Baseado nos relatos dos participantes após as palestras e vídeos, percebeu-se que o resultado do evento foi satisfatório, de modo que, a temática abordada despertou grande interesse e agregou conhecimentos a formação acadêmica dos envolvidos.

O evento gerou certificado de oito horas para os ouvintes, que acompanharam no mínimo 75% da programação, de duas horas para palestrantes e de 74 horas para a equipe organizadora. Ao final dos módulos, a pedido dos participantes, as palestras e vídeos foram disponibilizados através do drive, para que eles pudessem rever o conteúdo sempre que julgassem necessário. Ao total, 21 ouvintes, três palestrastes e nove membros organizadores receberam certificado.

A participação de discentes em ações extracurriculares como eventos acadêmicos é de grande relevância por proporcionar o contato com novas perspectivas e informações podendo aproximar o graduando com a sua futura área de atuação. São importantes momentos de troca de conhecimento que colaboram para a formação da identidade do universitário (FIGUEREDO et al., 2016).

Dentre as inúmeras abordagens que podem nortear um evento acadêmico, estão, sobretudo, aquelas que envolvem temas atuais. A aromaterapia, por exemplo, tem se tornado cada vez mais presente na vida das pessoas, de forma que, os óleos essenciais estão muito populares. Essa condição é relevante por contribuir para o bem estar, no entanto, demanda a busca de conhecimentos para evitar o uso arbitrário dos óleos (TISSERAND, 2004; LYRA, 2010).

Neste contexto, eventos como o relatado nesse trabalho tem grande importância por trazer esclarecimentos e abrir novas perspectivas sobre a aromaterapia, que ainda tem muito a ser explorada (LYRA, 2010).

## CONCLUSÃO

O projeto proporcionou aos participantes e a equipe executora um olhar mais detalhado sobre a aromaterapia, chamando atenção, sobretudo, para a importância do conhecimento a respeito das propriedades e aplicabilidades dos óleos essenciais para evitar que eles sejam utilizados de forma leviana. Instigando todos os envolvidos a se aprofundarem na temática e despertando o interesse de explorar o potencial aromático

de diferentes espécies botânicas, bem como, de aplicar os óleos como fonte geradora de renda.

## REFERÊNCIAS


ANDREI P, DEL COMUNE A. P. Aromaterapia e suas aplicações. Centro Universitário São Camilo, v. 11, n.4, p. 57-68, 2005.

BIESK, I. G. C. Plantas medicinais e aromáticas no sistema único de saúde da região sul de Cuiabá-MT. 2005. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Quim. Nova, n. 32, p. 588, 2009.

BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. Quim. Nova, v. 45, n. 8, p. 949-958, 2022.

BUCKLE, J. Aromatherapy: is there a role for essential oils in current and future healthcare? Bulletin Tchnique Gattefosse. p 95-102, 2010.

CANDAN, F.; UNLU, M.; TEPE, B.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SÖKMEN, A.; AKPULAT, H. A. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of Achillea millefolium subsp. millefolium Afan. (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology, v. 87, n.2, p. 215-220, 2003.

CHOUDHURY, R. P.; KUMAR, A.; GARG, A. N. Analysis of Indian mint (Mentha spicata) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. In press. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.7, n.3, p.25-32, 2006.

CZEPAK, M. P. Produção de óleo bruto e mentol cristalizável em oito freqüências de colheita da menta (Mentha arvensis L.). In: MING L. C. (ed.). Plantas medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica. UEP. 53 -80, 1998.

DEANS, S. G.; WATERMAN, P. G. Biological activity of volatile oils. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, G. P. (ed.). Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production. Londres: John Willey & Sons, 1993.

ERTEKIN, C.; HEYBELI, N. Thin-layer infrared drying of mint leaves. Journal of Food Processing and Preservation, v. 38, p. 1480-1490, 2014.

FEITOSA, R. M.; DANTAS, R. L.; GOMES, W. C.; MARTINS, A. N. A.; ROCHA, A. P. T. Influência do método de extração no teor de óleo essencial de hortelã (Mentha spicata). Revista Verde, v. 9, n. 4, p. 238-241, 2014.

FIGUEREDO, J. L.; AQUINO, A. F. C.; ANDRADE, E. N.; ROSAS, L. S. A importância da participação dos estudantes do ensino superior em eventos científicos para sua formação acadêmica. Anais III CONEDU. Campina Grande: Realize Editora, 2016. Disponível em: https://www.editorarealize.com.br/index.php/artigo/visualizar/19884. Acesso em: 30/11/2023.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. Plantas aromáticas e medicinais. Fatores que afetam a produção. In: FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J.G., PEDRO, L.G. (eds.). Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais. Curso Teórico-Prático, 3 ed. Lisboa: Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007.

FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L.G.; BARROSO, J. G. Plantas aromáticas e medicinais - Óleos essenciais e voláteis. Revista da APH, n.114, 2014.

FORTUNA, L. Aromaterapia naturopatica. 3 ed. Milano: Edizione Enea, 2010.

FORTUNA, L. Psicoaromaterapia sciamanica. 1 ed. Milano: Edizione Enea, 2014.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 9235:2021. Aromatic natural raw materials – Vocabulary. Genebra: International Organization for Standardization, 2021.

LAVABRE, M. Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais. Belo Horizonte: Laszlo, 2018.

LICHTINGER, R. Aromatherapy and spirituality an article in the “Aromascents”, Issue 36, Winter, 2006.

LYRA, C. S. A. aromaterapia científica na visão psiconeuroendocrinoimunológica um panorama atual da aromaterapia clínica e científica no mundo da psiconeuroendocrinoimunológica. 2010. Dissertação - Universidade de São Paulo. 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria N° 702, de 21 de março de 2018. Dispõe sobre a inclusão de novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares- PNPIC. 2018.

NASCIMENTO, A.; PRADE, A. C. K. Aromaterapia: O poder das plantas e dos óleos essenciais. ObservaPICS-Fiocruz: Recife, 2020.

OCAMPOS, R. K.; LAURA, V. A.; CHAVES, F. C. M. Efeito de diferentes formas de adubação em hortelã rasteira: biomassa e teor de óleo essencial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42.; Resumos [...], 2002.

OLIVEIRA, R. K. B.; SARMENTO, A. M. M. F. O uso dos óleos essenciais de Gerânio e Junípero no rejuvenescimento facial. Revista Diálogos em Saúde, v. 2, n.1, p. 38-52, 2019.

PEDROSA, A. R. M. F.; PORFIRIO, M. L. N. B. Óleos essenciais nos tratamentos das disfunções estéticas. In: Conexão Unifametro – XVI Semana Acadêmica, Anais [...], 2020.

RHIND, J. P. Essential oils: A handbook for aromatherapy practice. England: Singing Dragon, 2012.

ROSE, J. O livro de aromaterapia. Rio de Janeiro: Campus, 1996.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food and Chemical Toxicology, v. 91, n.4, p. 621-632, 2005.

TISSERAND R. The art of aromatherapy. 2 ed. Saffron Walden: CW Daniel, 2004.

CAPÍTULO 10

# EXTRAÇÃO DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS DO PETRÓLEO EM BANHO DE ULTRASSOM TERMOSTATIZADO

*Data de submissão: 22/12/2023* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Aloisio Jose Bueno Cotta**
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Campus São Mateus. São Mateus - ES.
http://lattes.cnpq.br/3298545143757892

**Davi Aguiar De Araújo**
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Campus de Goiabeiras, Vitória - ES.
http://lattes.cnpq.br/4068929503485577

**Honério Coutinho de Jesus**
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Campus de Goiabeiras, Vitória - ES.
http://lattes.cnpq.br/7418271091830003

**Renato Pereira de Andrade**
Instituto Federal de Educação, Ciência E Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais. Campus Juiz de Fora - MG.
http://lattes.cnpq.br/0116697763506568

**RESUMO:** As necessidades da indústria do petróleo por estudos dedicados à determinação de metais e ametais abrangem todas suas ações, desde as etapas de prospecção e exploração, até a produção e refino dos óleos. Nos últimos anos, a análise de metais e ametais em óleo bruto tem recebido atenção especial graças ao desenvolvimento e popularização de técnicas multi-elementares de alta sensibilidade, como a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). O presente trabalho objetivou o desenvolvimento de um novo procedimento de extração de metais e ametais a partir de amostras de petróleo. Neste, pequenas quantidades de uma base (hidróxido de tetrametilamônio - TMAH) e um agente complexante (ácido etilenodiaminotetracético - EDTA) são empregados em um processo assistido por ultrassom, com temperatura controlada, para promover a extração. Os efeitos da temperatura (entre 40 e 70 ºC) e as quantidades (100 a 300 μL) dos extratores, TMAH 25 % e solução de EDTA 34 mM, foram avaliadas através de um planejamento fracionário $2^{3-1}$. Um conjunto de sete elementos (Ba, Mn, Sr, Fe, Cu, Na e Mo) foi completamente transferido para a fase aquosa extratora, a qual pode ser analisada por ICP-MS, sem necessidade de adaptações, e empregando-se padrões aquosos para calibração do espectrômetro. A avaliação conjunta dos dados destes sete elementos revelou que a extração é mais

efetiva combinando EDTA no nível superior com TMAH no inferior, independentemente da temperatura utilizada.
**PALAVRAS-CHAVE:** metais, EDTA, planejamento experimental, ICP-MS.

## EXTRACTION OF INORGANIC CONSTITUENTS FROM PETROLEUM IN A THERMOSTATED ULTRASOUND BATH

**ABSTRACT**: The oil industry's needs for studies focused in the determination of metals and non-metals cover all its actions, from the prospecting and exploration stages, to the production and refining of oils. In recent years, the analysis of metals and non-metals in crude oil has received special attention thanks to the development and popularization of highly sensitive multi-element techniques, such as inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The present work aimed to develop a new procedure for extracting metals and non-metals from petroleum samples. In this, a small amount of a base (tetramethylammonium hydroxide - TMAH) and a complexing agent (ethylenediaminetetraacetic acid - EDTA) are used in an ultrasound-assisted process, with controlled temperature, to promote extraction. The effects of temperature (between 40 and 70 ºC) and quantities (100 to 300 $\mu$L) of extractants, 25 % TMAH and 34 mM EDTA solution, were evaluated through a fractionated experimental design $2^{3-1}$. A set of seven elements (Ba, Mn, Sr, Fe, Cu, Na and Mo) was completely transferred to the aqueous extraction phase, which can be analyzed by ICP-MS, without the need for adaptations, and using aqueous standards to calibrate the instrument. The conjunctive evaluation of data for these seven elements revealed that extraction is more effective combining EDTA at the upper level with TMAH at the lower level, regardless of the temperature.
**KEYWORDS:** metals, EDTA, experimental design, ICP-MS

## 1 I INTRODUÇÃO

A produção de petróleo no Brasil cresceu 5,5 % em 2020 e ultrapassou 3,02 milhões de barris/dia em 2022, com os campos do pré-sal sendo responsáveis por 75 % da produção (ANP, 2022). Nestes o óleo extraído contém quantidades significativas de água emulsionada com sais dissolvidos, principalmente cloretos de sódio, cálcio e magnésio, cuja soma pode exceder 25g/L (Falla et al. 2006; Bahadori et al. 2012; Pessoa et al. 2012; Souza et al. 2020a; França et al. 2021).

A extração dos constituintes inorgânicos do petróleo bruto não é um processo fácil, uma vez que, estes estão dispersos em frações distintas de hidrocarbonetos e compostos policíclicos. Por exemplo, quantidades variáveis de Na, Ca, Mg, Al, Zn e Ti que estão presentes como sais solúveis, sulfitos, e óxidos, e em combinação com ácidos naftênicos podem ser parcialmente removidos por simples extração com água (Abbas et al. 2010). No entanto, V, Ni, Fe, Cr e Mo, geralmente, estão na forma de asfaltenos e complexos organometálicos de porfirinas solúveis em óleo, que são de difícil remoção, e se concentram nas frações residuais do refino (Kalichevsky e Stagner, 1942; Yen, 1975; Ali e Abbas 2006; Nuranbaeva et al. 2013, Shang et al. 2016). Souza et al. (2015) demonstrou a

utilidade do método ASTM 6479-99 (com misturas de xileno, álcool isopropílico e acetona, sob ebulição) para extrair Na, Ca, Mg, Fe e Sr do petróleo para uma fase aquosa usada para quantificação por ICP-OES.

Metais e ametais presentes no óleo precisam ser quantificados e removidos das matérias-primas para evitar problemas operacionais durante o processamento (Smith e Arnold, 1992; Pereira et al. 2015, Souza et al. 2020b). Geralmente, as análises são feitas antes e após a etapa de dessalinização, seguindo procedimentos padronizados (Koshelev et al. 2000; Speight 2001). Mas, como destacado por Soin e colaboradores (2010), a maioria dos procedimentos internacionalmente recomendados são complicados, aplicáveis a apenas um pequeno conjunto de analitos e ainda apresentarem elevados limites de quantificação.

Muitos métodos alternativos já foram testados, por exemplo, Kukes e Battiste (1985) usaram ácido fosforoso ($H_3PO_3$) entre 200 e 500º C, Eidem (1988) usou o ácido fosfórico ($H_3PO_4$) à 260º C e Michlmayr (1977) alcançou 50 % de remoção de Ni e V ao tratar o óleo pesado na proporção (1:1) com solução 1 molar de $FeCl_3$ e HCl por 30 min a 93º C. Abbas et al. (2010) avaliaram que o uso de soluções diluídas de ácidos, sais ($FeCl_3$, $SnCl_2$, $Na_2SO_4$ ou $MgSO_4$), ou agente complexante (EDTA), combinados com aquecimento (200 a 250º C) e centrifugação, promovem a remoção parcial de diversos metais. Porém, o tratamento do óleo à 250º C por 30 min., com 5 % ácido sulfúrico ($H_2SO_4$) concentrado, seguido de lavagem e centrifugação extraiu até 85 % do Na, Ca, Fe, Zn, Al, Cr, Ni e V para a fase aquosa, à qual pôde ser analisada por técnicas instrumentais para quantificação dos metais. Porém, a formação de uma emulsão estável foi apontada como empecilho à aplicação do método. Shang et al. (2016) alcançou 80 % de eficiência de extração de Ni e V após irradiar dispersões de ácido metasulfônico em petróleo com microondas.

Técnica similar foi desenvolvida por Garwood (1972), mas com menores quantidades de $H_2SO_4$. Greaney e Polini (1998) combinaram extratores alcalinos (NaOH, KOH ou $NH_4OH$) com agentes de transferência de fase (surfactante Triton X-100, e hidróxido de tetrabutilamônio - TBAH), entre 100 e 180º C, com fluxo de ar a 10 atm, porém a formação de emulsões foi novamente reportada como prejudicial à obtenção do extrato, além de comprometer sua posterior análise.

A determinação de metais e ametais em óleo bruto voltou a receber atenção graças a popularização de técnicas multi-elementares de alta sensibilidade, como o ICP-MS (espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado). A análise por injeção direta do petróleo no ICP-MS é conveniente, mas está sujeita a uma série de complicações, uma vez que esta técnica foi originalmente desenvolvida para amostras aquosas. Além disso, a falta de padrões de calibração, preparados em matriz idêntica às amostras; dificuldades para nebulizar e injetar o aerossol com alta carga orgânica no plasma sem sua extinção; necessidade de longos tempos de lavagem entre amostras; ocorrência de “efeitos memória”, e a formação adicional de interferentes poliatômicos ($C_2^+$, $CO_2^+$, $ArC^+$), afetam as

determinações (Lienemann et al. 2007). Nem os aparelhos adaptados com kit de injeção de oxigênio ao plasma estão livres de dificuldades, pois a formação de depósitos carbonáceos sobre os cones e lentes do espectrômetro, mesmo após diluição das amostras (1:10) com o-xileno, comprometem as análises (Kahen et al. 2003; Nelson e McCurdy, 2017). Por isso, com frequência as amostras são decompostas por ataque multi-ácido, com alto poder oxidante, ou por combustão, antes das determinações (Pereira 2011; Mello et al. 2012; Ortega et al. 2013; Walkner et al. 2017; Mohammad et al. 2019).

No geral, os métodos de decomposição são lentos e perigosos, tanto pelo manuseio de reagentes tóxicos e corrosivos em altas temperaturas, como pelo risco de explosão, decorrente da elevada pressão desenvolvida no interior dos frascos de digestão como consequência da geração de gases (p. ex.: $CO_2$). Além disso, apresentam baixa produtividade por requerem várias horas para completar a digestão e pelo limitado número de amostras que são preparadas em cada lote (Cotta e Enzweiler, 2012; Pontes et al. 2013). Mello e colaboradores (2012) revisaram uma década de publicações, e compilaram uma extensa lista de técnicas de preparo de amostras de petróleo para análise elementar e especiação.

Uma vez que, a maioria das técnicas de digestão são insalubres e de alto risco, os procedimentos de extração despontam como uma boa alternativa, pois são de fácil aplicação e por empregarem condições menos drásticas (Cassella et al. 2018). Neste processo, os analitos são simplesmente removidos de seus sítios na matriz da amostra e solubilizados na solução extratora, sem a necessidade de digestão (Perera e Stevens 2011). A efetividade do processo depende essencialmente da penetração da solução extratora na matriz da amostra, o que é favorecido pela agitação da mistura ou com a aplicação de uma fonte auxiliar de energia, como o ultrassom (Castro e Capote 2007). Desta forma, a transferência dos analitos entre as fases é acelerada, o que contribui para tornar o processo rápido e eficiente (Cravotto e Cintas 2012).

Robaina et al. (2016) propôs um novo procedimento para completa transferência dos cloretos da amostra de petróleo para uma fase aquosa, o qual é baseado na técnica de Extração Induzida por Quebra de Emulsão (EIQE). O procedimento, inicia com a agitação por 90 min da mistura (0,5g de amostra + 0,5g de óleo mineral e 5 mL de solução aquosa à 2,5 % (m/v) de Triton X-114, surfactante não iônico) para formação de uma emulsão óleo em água, à qual é desfeita com centrifugação (5.000 rpm/20min), para que uma alíquota da fase aquosa seja analisada por cromatografia de íons.

Cassella et al. (2018) empregou a EIQE para transferência de As, Cr, Cu, Mn, Pb e V de porções de 10 mL óleo mineral fortificado padrão (Conostan™) para 2 mL de solução aquosa contendo 1 % (m/v) de Triton X-100 (ou X-114) e 10 % (v/v) de $HNO_3$, como agente de extração. A emulsão foi desestabilizada mediante aquecimento a 90º C, sendo a fase aquosa analisada por GF-AAS (espectroscopia de absorção atômica com forno de grafite). Contudo, o arsênio apresentou recuperações inferiores à 60 %, frente ao obtido com o

método de referência (ASTM D6470), inviabilizando a quantificação do As. A revisão de Mdluli et al. (2022) destacou a ampla adoção da EIQE (com Triton X-114 em meio ácido) para o preparo de amostras de óleo vegetal e mineral.

Souza et al. (2006) demonstraram que a extração de Cd, Cr, Fe, Mn, Mo, Ni, Ti, V e Zn, a partir de amostras de petróleo, é possível empregando-se $HNO_3$ concentrado, à 85° C, por 30 minutos, seguido de 15 minutos em banho de ultrassom. Ghisi et al. (2011) determinaram Fe e Cu em biodiesel após tratamento com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) por 5 minutos a 90° C em placa aquecedora. Yun et al. (2013), após testar diversos extratores e modos de agitação/aquecimento, concluíram que a extração assistida por microondas, empregando solução aquosa de TMAH como extrator, promove maior extração das espécies de metil e dimetil mercúrio em amostras de petróleo. Zhou et al. (1996) demonstraram que o uso de TMAH, auxiliado por um agente complexante (ácido etilenodiaminotetracético, EDTA) é eficiente para extrair Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn de amostras de material vegetal e animal.

O uso do TMAH para solubilização/extração de metais a partir de diversas amostras, como: leite em pó, carne bovina, filé de peixe, cabelo, sangue, unha e óleos vegetais já foi explorada com sucesso (Martins et al. 2002, Silva et al. 2003, Batista et al. 2008, 2009; Navarro et al. 2013; Manjusha et al. 2019). Apesar da eficiência do tratamento de amostras de matriz orgânica com TMAH, até o momento, nenhum método havia proposto seu uso na extração de constituintes inorgânicos (metais e ametais) a partir de amostras de petróleo.

Diferentemente da aplicação convencional (com surfactante em meio ácido), neste estudo objetivou-se testar o uso da EIQE com extrator alcalino (TMAH), auxiliado por um agente complexante (EDTA) em banho de ultrassom termostatizado, para promover a transferência do maior conjunto de metais e ametais para a fase extratora aquosa, à qual é posteriormente analisada por ICP-MS. Desta forma, objetiva-se desenvolver um procedimento de extração eficiente e que permita garantir a máxima de performance desta técnica multi-elementar de alta sensibilidade, alcançada ao analisar soluções aquosas, sem a necessidade de incorporar acessórios ao ICP-MS. Além disso, o procedimento proposto é atrativo dada a sua baixa periculosidade e pelo uso de reagentes diluídos, em acordo com os princípios da química verde (Mason e Cintas 2002).

## 2 I MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização e determinação das concentrações totais de elementos-traço nas amostras de petróleo

Duas amostras de petróleo (A e B) da bacia sedimentar continental, do norte do Espírito Santo, Brasil, foram obtidas e analisadas com procedimentos padronizados (ASTM, descriminados em Rocha et al. 2019) para caracterização físico-química e determinação de metais e ametais por ICP-MS (Thermo Fisher Scientific, X series2), após digestão ácida,

conforme descrito por Ortega et al. (2013), em que 300mg de amostra são decompostos com 7,5 mL de $HNO_3$ e 0,5 mL de $H_2O_2$ em forno de micro-ondas, modelo Multiwave PRO, Anton Paar (São Paulo, Brasil).

## 2.2 Homogeneização das amostras e tomada de alíquotas

Para tomada das alíquotas das amostras de petróleo uma porção de aprox. 500 mL foi aquecida em banho maria à 60º C, com agitação manual. Desta, aprox. 50 mL foram transferidos para um tubo de centrífuga e homogeneizada com Ultra-Turrax (IKA, T25, Campinas, Brasil) por 10 minutos. Cada ensaio foi realizado com porções de aprox. 2 mL vertidos em tubos de centrífuga de 15 mL, tipo falcon (Kasvi). Os tubos foram pesados antes e depois da adição das alíquotas em balança analítica (Shimadzu, AUX220). A massa das porções variou de 1,80 a 2,20 g, sendo o manuseio realizado em capela, com máscara e luvas.

## 2.3 Procedimento de extração

Uma série de ensaios foram realizados para estudar os efeitos das variáveis: temperatura (40, 55 e 70º C), quantidades (100, 200 e 300 μL) de TMAH 25 % e de solução de EDTA 34 mM sobre a eficiência de extração de diversos elementos-traço. Os ensaios (1 a 11) foram realizados em banho de ultrassom (por 30 minutos), seguindo um planejamento experimental $2^{3-1}$, com triplicata no ponto central (ensaios 9,10 e 11), apresentado na Tabela 1, e esquematizado na Figura 1. O TMAH e EDTA foram adquiridos da Sigma-Aldrich (TraceSELECT).

| ensaio | Temp. (º C) | TMAH (μL) | EDTA (μL) |
|---|---|---|---|
| 1 | -1 | -1 | -1 |
| 2 | -1 | -1 | +1 |
| 3 | -1 | +1 | -1 |
| 4 | -1 | +1 | +1 |
| 5 | +1 | -1 | -1 |
| 6 | +1 | -1 | +1 |
| 7 | +1 | +1 | -1 |
| 8 | +1 | +1 | +1 |
| 9, 10, 11* | 0 | 0 | 0 |

* PC = ponto central preparado em triplicata.

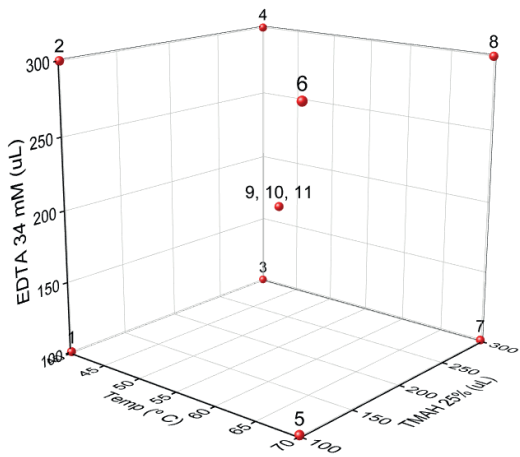



Figura 1. Representação das variáveis e níveis em cada ensaio.

Tabela 1. Planejamento experimental, variáveis codificadas

A construção do planejamento e avaliação dos dados foi realizada com o software livre CHEMOFACE (Nunes et al. 2012), para verificar como as variáveis estudadas afetam a eficiência da extração. Além disso, o software também foi utilizado para definir a melhor combinação das variáveis (temperatura e quantidades de TMAH e EDTA) que permite a completa extração de uma suíte de analitos. Para tal, a função "*global desirability*" foi aplicada a cada uma das variáveis resposta (concentração dos elementos-traço com alta eficiência de extração), transformando os seus valores através de uma média geométrica, para gerar uma representação conjunta das respostas e assim, permitir a identificação da melhor condição para extração simultânea de um conjunto de analitos.

Em cada ensaio alíquotas de 2,0±0,2 g da amostra de petróleo foram vertidas em diferentes tubos de centrífuga de 15 mL (tipo Falcon), depois a fase extratora composta pelas porções (100, 200 ou 300uL) de EDTA 34mM e (100, 200 ou 300uL) de TMAH 25 % foi adicionada e avolumada com água deionizada para alcançar 10,0±0,2 g de fase aquosa. Todas diluições foram realizadas gravimetricamente, com registro em balança analítica com quatro casas decimais. Na sequência, procedeu-se com o tratamento no banho de ultrassom termostatizado (40, 55 ou 70º C) por 30 minutos, com rápida agitação manual a cada 10 minutos.

Ao final da extração fez-se a adição de 300 $\mu$L de solução de $HNO_3$ à 50 % (v/v), e novo aquecimento dos extratos a 60º C por 30 minutos, antes da centrifugação (10 min à 5.000rpm). A adição de ácido, aquecimento (sem irradiação de ultrassom) e centrifugação se mostraram importantes para promover a quebra da emissão óleo/água e assim obter uma fase aquosa límpida, com pouco óleo disperso, e com pH<1 para estabilização dos analitos em solução. Foi tentado fazer a quebra da emulsão formada durante a extração (sem novo aquecimento do extrato). Isto é com apenas adição de ácido e centrifugação, porém a separação só foi completa com a inclusão da etapa de aquecimento antes da centrifugação, a qual se mostrou indispensável para aplicação da EIQE.

A fase aquosa foi transferida para outro tubo de 15 mL, e encaminhada para determinação das concentrações de metais e ametais por ICP-MS, no Instituto de Geociências (IG) da UNICAMP, conforme Cotta e Enzweiler (2009). Para o controle de qualidade dos resultados porções fortificadas dos extratos aos níveis de 1 e 10 $\mu$g/L foram analisadas, as quais produziram resultados com erros menores à 15 % e precisão (coeficiente de variação) menor que 10 %.

Dois brancos do procedimento, representando os níveis superior e inferior, foram preparados e analisados para subtração de impurezas dos reagentes e de pequenas contaminações, as quais foram inferiores à 10 % das concentrações medidas nas amostras. Replicatas dos níveis superior e inferior, contendo amostra, foram preparadas para medição do pH dos extratos, cujos valores variaram 10,8 a 12,0 de acordo com a quantidade de TMAH adicionada. Nessa faixa (pH>10) todo o EDTA assume a forma aniônica ($Y^{4-}$) ligante, a qual é responsável para complexação dos metais (Harris, 2001).

Todos os materiais (tubos, frascos e Beckers) foram previamente descontaminados por imersão a 24 h em solução 5% $HNO_3$ (Merck, P.A.), previamente purificado em sub-destilador de quartzo (FGG Comercial, São Paulo, Brasil), seguido de enxague com água de osmose reversa (Q-342-210, Quimis, São Paulo, Brasil).

O TMAH 25 % foi usado como recebido. A solução 34 mM (10.000 mg/L) de EDTA (Sigma-Aldrich, forma ácida, 99,995 %) foi preparada dissolvendo-se exatamente 0,500 g em 50,0 mL de água deionizada com 1,5 mL do TMAH para auxiliar na solubilização do EDTA.

Para calcular a concentração de cada elemento extraído da amostra de petróleo a concentração medida nos extratos aquosos (Ca) foi corrigida subtraindo-se a contribuição do branco (Cb), e ao considerar as massas da fase extratora aquosa (Ma) e massa da amostra (Mp) utilizada em cada ensaio, bem como, a densidade do petróleo (d), expressa em $g/cm^3$, equação 1.

*Conc. na amostra (mg/kg) = (Ca – Cb) *Ma/(Mp*d) Eq. (1)*

Os valores de concentração, de cada elemento extraído das amostras, foram contrastados frente os dados de concentração total (obtida com digestão em micro-ondas) para avaliar os efeitos das variáveis sobre os teores extraídos e a eficiência do procedimento.

## 3 I RESULTADOS

A caracterização físico-química das amostras e os teores totais dos constituintes traço são apresentadas nas tabelas 2 e 3, respectivamente. As amostras são classificadas como óleos pesados, com grau API<22, com valores próximos do limite para classificação como extrapesado (º API< 10). Isso indica que as amostras são ricas frações pesadas (como resinas e asfaltenos), as quais concentram elementos como V e Ni, estando estes fortemente ligados em metaloporfirinas (Shang et al. 2016).

| | BSW (%) | Sal (mg/L) | Acidez (mg/L) | PF* (°C) | Densidade ($g/cm^3$) | Grau API | Viscosidade ($mm^2/s$) | S (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 1,6 | 60,7 | 2,19 | 12 | 0,9772 | 12,74 | 1484 | 0,396 |
| B | 0** | 3.985 | 1,29 | -12 | 0,9500 | 14,85 | 3749 | 0,488 |

** PF= ponto de fluidez. ** Não houve separação de fases.*

Tabela 2. Características físico-químicas das amostras teste (A e B)

A razão água-óleo é chamada de BSW (basic sediment and water - BSW). Segundo Silva (2004), há uma grande dificuldade para promover a separação da água emulsionada no óleo dada a repulsão elétrica interfacial entre as gotículas da fase aquosa, impedindo sua coalescência. A aglutinação das gotículas apenas ocorre quando estas colidirem

em si com energia suficiente para superar a força repulsiva. Asfaltenos, resinas, fenóis, compostos oxigenados e de enxofre atuam como emulsificantes naturais, estabilizando a emulsão, pois formam uma película que dificulta o contato entre as gotículas de água. O que impede a coalescência da fase aquosa dispersa (Silva 2004).

As amostras A e B são distintas no que se refere aos valores de BSW. A amostra A apresenta menor teor de sais dissolvidos, como indicado pelo parâmetro sal, o qual foi determinado com método potenciométrico (ASTM D6470-99), além de menor viscosidade e grau API. Em contraste seu maior ponto de fluidez provavelmente resulta de maiores teores de parafinas e/ou aromáticos policíclicos, como correlacionado por Coutinho et al. (2022).

A amostra A apresenta 1,6 % de água emulsionada que pôde ser separa mediante o tratamento com agente desemulsificante do método ASTM D4007-08. O mesmo tratamento quando aplicado para a amostra B não produziu separação de fases e, por isso, o resultado é apresentado como zero. Isto indica que a amostra B contêm maior teor de emulsificantes naturais. Esta suposição é corroborada pelos maiores valores de viscosidade cinemática, sal e enxofre total (S). Assim a amostra B se apresenta como a mais difícil para tratamento com a técnica de EIQE, empregada nesse estudo. Por isso, a discussão de seus resultados será destacada. Greaney and Polini (1998) reportaram a grande estabilidade das emulsões formadas ao tratar petróleo com soluções alcalinas de NaOH e KOH, as quais se mantiveram estáveis mesmo quando aquecidas à 100º C.

Na sequência de imagens da Figura 2 está ilustrada a dificuldade de quebra da emulsão água-óleo, a qual foi superada para aplicação da técnica de EIQE mediante a inclusão de uma etapa de aquecimento (sem irradiação de micro-ondas) após acidificação do extrato (adição de 300 $\mu$L de $HNO_3$ à 50 %), seguida de centrifugação (5.000 rpm por 10 min). A imagem 2C ilustra que sem a etapa de aquecimento (60º C por 30 min), a combinação de apenas acidificação e centrifugação não promove a quebra da emulsão. Em 2D é mostrada que mesmo com a irradiação de ultrassom por 30min, à temperatura ambiente, também não se consegue uma efetiva separação de fases, pois a fase aquosa ainda permanece visivelmente turva. A inclusão de uma etapa de aquecimento, entre as etapas de acidificação e centrifugação, permitiu obter extratos mais límpidos, imagem 2E, quando comparados com os tratamentos ilustrados em 2C e 2D.

Figura 2. Aspecto dos extratos da amostra B ao longo do processo de extração. (A) extratos compostos por aprox. 2,0 g de petróleo e 10 mL de fase extratora aquosa, contendo EDTA e TMAH. (B) após irradiação e aquecimento (70º C) no banho de ultrassom por 30 min. (C) após acidificação e centrifugação. (D) após irradiação em ultrassom em temperatura ambiente. (E) extratos após acidificação, aquecimento e centrifugação.

Estes extratos límpidos puderam ser submetidos à análise por ICP-MS sem significativo *"drift"* instrumental ao longo das sessões de análise (sinalizado pela estabilidade do sinal dos padrões internos escândio e índio ($^{45}Sc^{+}$ e $^{115}In^{+}$); *drift*<15 %) e repetibilidade gerada pela solução padrão de verificação utilizada nos métodos Cotta e Enzweiler (2009), e Magaldi et al. (2019).

Os teores totais dos elementos-traço nas amostras são apresentados na Tabela 3. Outros analitos (Ag, Al, B, Be, Bi, Cd, Ce, Dy, Er, Eu, Ga, Gd, Ge, Hf, Ho, La, Li, Lu, Nb, Nd, Rb, Sb, Se, Sm, Sn, Ta, Tb, Tl, Tm, U W, Y, Yb) foram analisados, mas não são apresentados na Tabela 2, pois estão abaixo do limite de detecção do método ≈ 0,1 mg/kg.

| | A | B |
|---|---|---|
| **As** | 1,8 | 0,8 |
| **Ba** | 2,7 | 5,3 |
| **Ca** | 2.712 | 1.214 |
| **Co** | 2,5 | 1,0 |
| **Cr** | 1,5 | 0,4 |
| **Cu** | 0,5 | 0,2 |
| **Fe** | 73 | 152 |
| **K** | 98 | 48 |
| **Mg** | 66 | 64 |
| **Mn** | 1,0 | 0,9 |
| **Mo** | 0,7 | 0,08 |
| **Na** | 500 | 709 |
| **Ni** | 39 | 17 |
| **Pb** | 1,6 | 0,8 |
| **Pr** | 0,08 | 0,04 |
| **Sr** | 0,9 | 6,0 |
| **Ti** | 16 | 6,0 |
| **V** | 4,9 | 2,6 |
| **Zn** | 6,1 | 4,0 |
| **Zr** | 2,2 | 0,8 |

Tabela 3. Concentração total (mg/kg), medida por ICP-MS após digestão total

A eficiência do procedimento de extração é representada na Figura 3 pela comparação dos maiores valores de concentração registrado nos extratos aquosos, quando comparados com os teores totais obtidos após decomposição total das amostras.

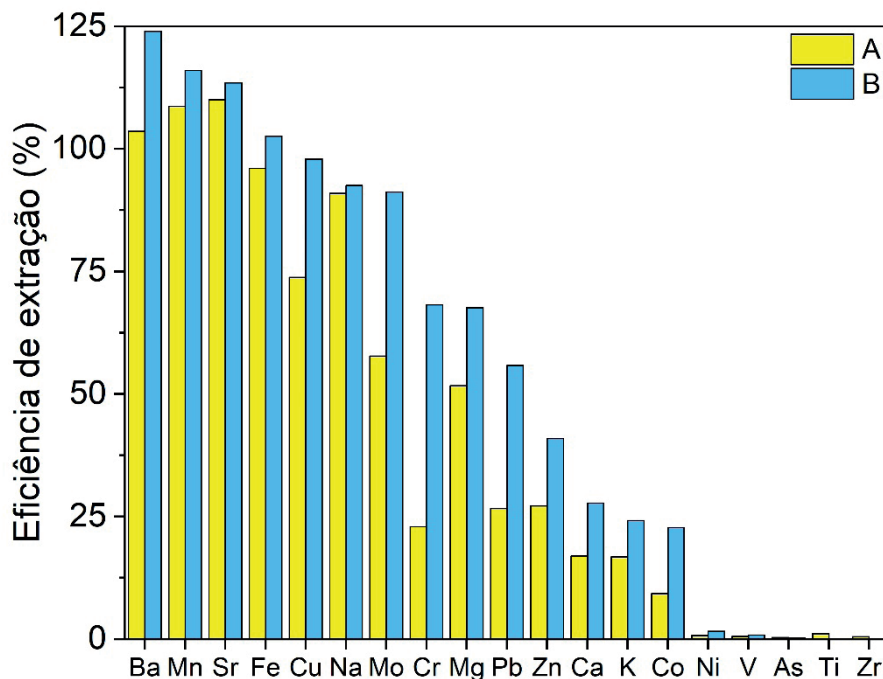



Figura 3. Máxima eficiência de extração (Tabela 1) frente os teores totais.

A eficácia das extrações foi avaliada contrastando os dados obtidos com as extrações frente os valores gerados após a digestão total. Uma faixa de ±25% de incerteza foi considerada, dada as dificuldades de determinação de elementos em baixas concentrações e possíveis heterogeneidades entre alíquotas de 2 g das amostras. Desta forma, admitiu-se que elementos com extração superior à 75 % sejam considerados como eficientemente extraídos. Os sete analitos (Ba, Mn, Sr, Fe, Cu, Na e Mo) puderam ser quantitativamente determinados com o procedimento proposto. Para os demais (Cr, Mg, Pb, Zn, Ca, K e Co) apenas uma extração parcial, variando de 74 a 9 %, foi alcançada. Outros constituintes como Ni e V, além de As, Ti e Zr, estão fortemente retidos à matriz do petróleo e, por isso, as eficiências foram inferiores à 3 %. V e Ni são, sabidamente, retidos em porfirinas e outras fases associadas à fração pesada dos óleos (Ali e Abbas 2006; Nuranbaeva et al. 2013, Shang et al. 2016), o que torna difícil sua extração.

Abbas et al. (2010) também alcançou apenas extrações parciais (entre 50 e 66 %) para Na, Ca, Fe, Zn e Cr ao tratar amostra de óleo pesado em condições brandas, isto é, ao usar ácidos diluídos como extrator. Os mesmos autores, destacaram também que V e Ni demandam o uso de condições drásticas para sua extração (i.e. alta conc. de ácido sulfúrico a 250º C). Chevron (1986) reportou eficiências de 99 % para o Ca, 35 % para o Fe e inferiores a 4 % para V e Ni em óleos pesados tratados com soluções de ácido pentacético e EDTA (pH entre 2 e 4,5).

Nossos resultados para Ca, Cr, Fe e Zn se assemelham aos reportados Abbas et al. (2010), e por Chevron (1986), o que indica que parte destes elementos é passível de extração total, ao passo que outros estão fortemente retidos à matriz das amostras. E por isso, o procedimento proposto serve como uma forma de especiação dos constituintes facilmente extraíveis daqueles fortemente retidos. Constatou-se que, praticamente, todo o conteúdo de V e Ni está fortemente retido nas amostras analisadas. Desta forma, sua extração completa requerer o emprego de procedimentos mais energéticos capazes de destruir a matriz das amostras.

Nas figuras 4 a 11 são apresentados os diagramas de Pareto, destacando as variáveis e interações com efeito significativo, ao nível de 5 % de probabilidade (p=0,05), e as representações bidimensionais (geradas ao se fixar a terceira variável no valor do ponto central, correspondente à 200 $\mu$L, isto é, com EDTA e TMAH em 200 $\mu$L nas imagens do centro e da direita, respectivamente) da concentração dos elementos extraídos da amostra B.

Nas figuras 4 a 9 são apresentados os efeitos para os analitos com recuperação total e nas figuras 10 e 11 são para o Pb e Ca, respectivamente, para os quais o procedimento estudado permitiu apenas uma extração parcial. A avaliação para o Mo não é apresentada, dado que sua concentração na amostra B é muito baixa (0,08 mg/kg). Como um planejamento fracionário, $2^{3-1}$, foi utilizado nos ensaios as interações não foram consideradas, assim os diagramas foram construídos com o modelo linear ajustado pelo Chemoface para resposta de cada analito.

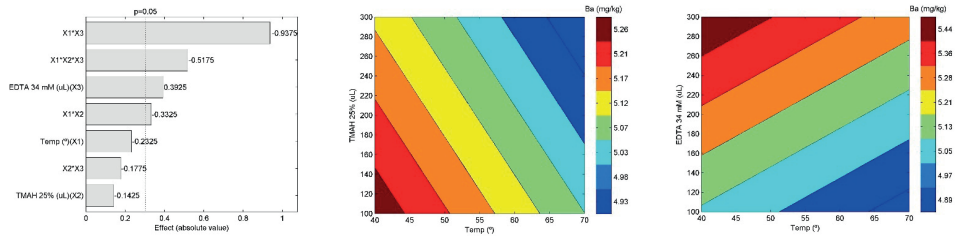



Figura 4. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Ba.

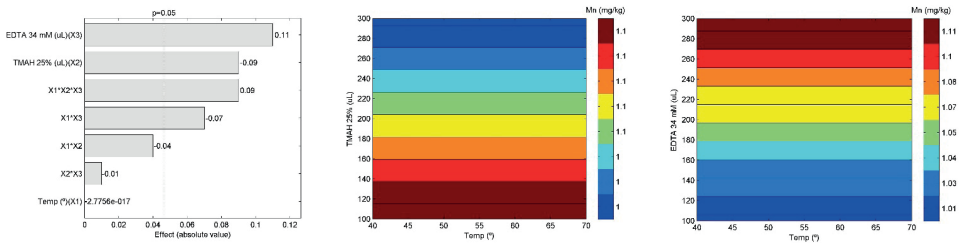



Figura 5. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Mn.

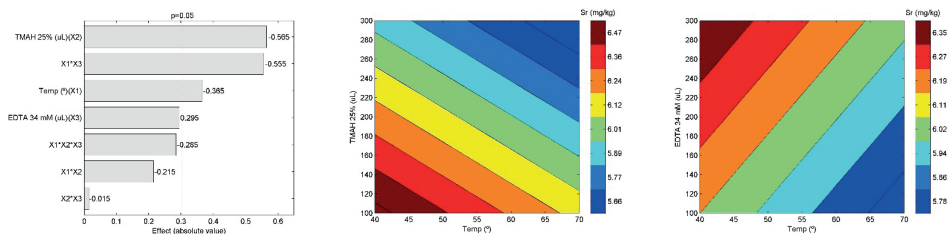



Figura 6. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Sr.

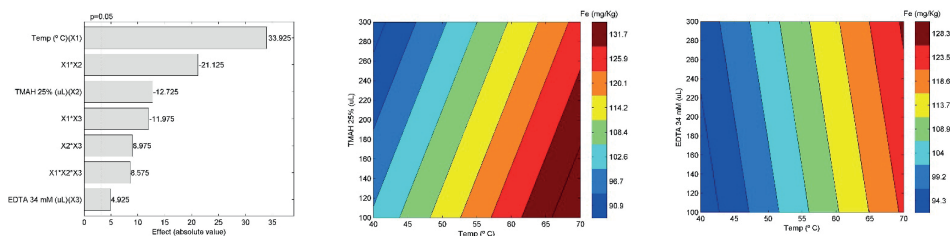



Figura 7. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Fe.

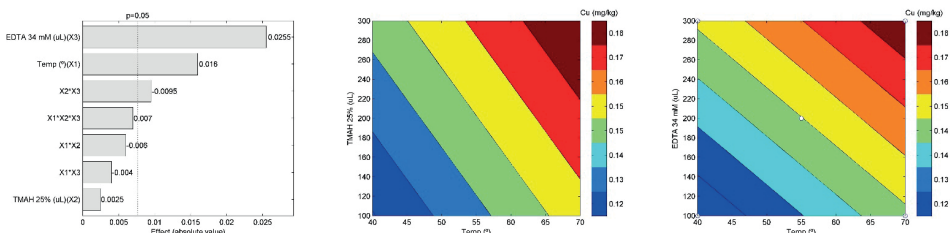



Figura 8. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Cu.

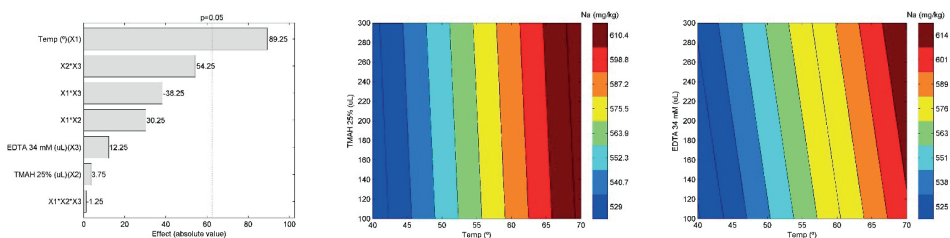



Figura 9. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Na.

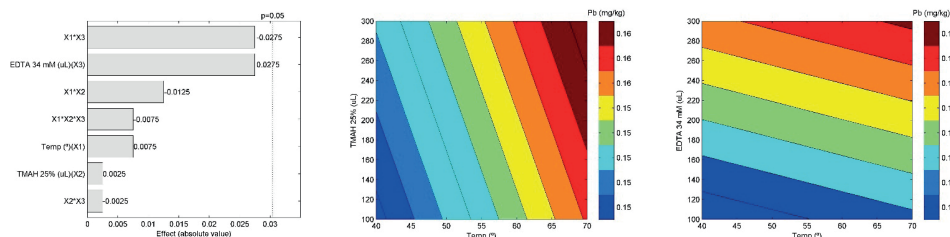



Figura 10. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Pb.

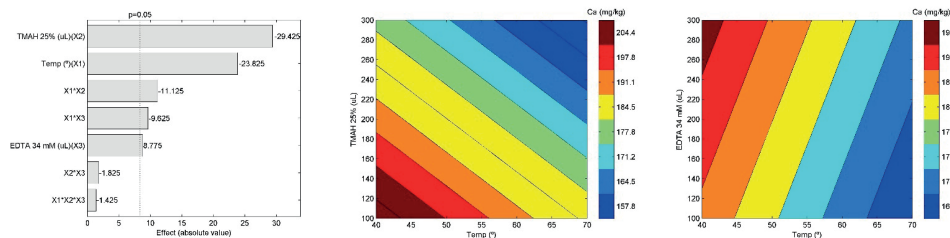



Figura 11. Diagrama de Pareto e representação da resposta para o Ca.

Ao examinar os diagramas de Pareto (Figuras 4 a 11) percebe-se que não existe uma condição única que permita maximizar a extração de todos os analitos considerados. Por exemplo, para o Sr e Ca a temperatura produziu efeito negativo e significativo sobre a eficiência da extração, sendo que ambos são melhor extraídos quando o procedimento é realizado à 40º C (nível inferior). Já, Fe, Cu e Na apresentaram respostas significativamente superiores com emprego de maior temperatura, 70º C, (nível superior).

Os efeitos significativos para as quantidades de TMAH e de EDTA foram consistentes para diversos elementos. No geral, o uso de menores quantidades de TMAH e maiores de EDTA levaram sistematicamente às maiores eficiências de extração, Tabela 4. O que favorece o estabelecimento de um procedimento único de extração para uma suíte de analitos.

| Elemento | Temperatura | TMAH 25 % | EDTA 34 mM |
|---|---|---|---|
| Ba | | | ↑ |
| Mn | | ↓ | ↑ |
| Sr | ↓ | ↓ | |
| Fe | ↑ | ↓ | ↑ |
| Cu | ↑ | | ↑ |
| Na | ↑ | | |
| Pb | | | |
| Ca | ↓ | ↓ | ↑ |

Tabela 4. Indicação dos efeitos significativos (α = 5 %) para os níveis superior (↑) e inferior (↓) das variáveis

Para o Ba apenas a variável EDTA produziu efeito significativo sobre a eficiência da extração. O que implica que a completa extração desse elemento independe do nível das variáveis temperatura e quantidade de TMAH. A extração do Pb se mostrou insensível à alteração das variáveis nos níveis estudados. Isto é, a mudança das condições de extração, entre os níveis inferior e inferior, não causou uma melhora significativamente na quantidade de Pb extraído, a qual se manteve entre 25 a 56 % nas amostras A e B (Figura 3).

Objetivando estabelecer uma condição que maximize a extração conjunta de uma suíte de elementos a função "*global desirability*" (GD) foi aplicada combinando-se os dados dos elementos passíveis de extração completa (Ba, Mn, Sr, Fe, Cu e Na), com pesos iguais. A otimização conjunta revelou, Figura 12, que a condição ótima de extração independe da temperatura, dentro da faixa estudada, e que o uso de menores quantidades de TMAH (100 $\mu$L) e maiores de EDTA (300 $\mu$L) propiciam as maiores eficiências de extração para esta suíte de analitos.

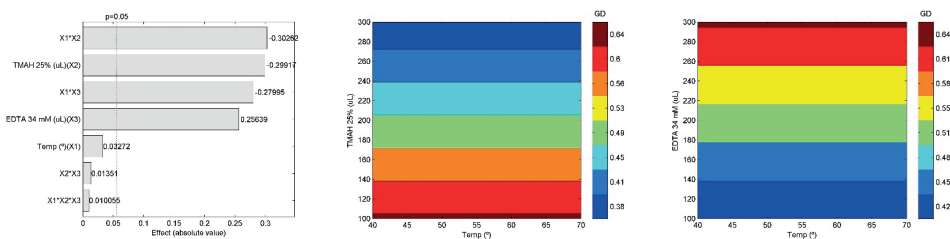



Figura 12. Diagrama de Pareto e representação da resposta "*desirability*" combinada para Ba, Mn, Sr, Fe, Cu e Na.

Manjusha et al. (2019) também reportou maiores extrações de metais de óleos vegetais comestíveis ao empregar menores proporções TMAH:EDTA.

## 4 I CONCLUSÕES

Os testes demonstraram que o procedimento baseado na EIQE, com extrator alcalino (TMAH) auxiliado por um agente complexante (EDTA) com aquecimento e irradiação de ultrassom, é aplicável no preparo de amostras para a determinação de elementos-traço em amostras de petróleo por ICP-MS, explorando a máxima sensibilidade instrumental desta técnica oferecida com análise de soluções e padrões aquosos. Com o procedimento estabelecido mesmo a amostra B, de mais difícil desemulsificação, pôde ser analisada.

A dificuldade da quebra de emulsão água/óleo foi superada ao se estabelecer um procedimento com acidificação, aquecimento e centrifugação que permite a obtenção de extratos aquosos límpidos, e que puderam ser analisados no ICP-MS sem causar problemas de "*drift*" instrumental, perda de sensibilidade por obstrução dos cones, nem problemas de ionização no plasma, como verificado pela estabilidade da resposta dos elementos usados como padrão interno, boas taxas de recuperação nas porções fortificadas e adequada

precisão instrumental reportadas.

Uma suíte de sete elementos (Ba, Mn, Sr, Fe, Cu, Na e Mo) pôde ser quantitativamente extraída. Estes elementos estão provavelmente associados a fase aquosa coloidal lábil ou a sais dispersos no petróleo. Este estudo revelou uma associação rica e complexa dos constituintes associados à diferentes fases das amostras. Distintivamente demonstrou-se que existe uma suíte de elementos que é passível extração total (Ba, Mn, Sr, Fe, Cu e Na), outros que por terem uma distribuição mais complexa entre fases lábeis e fortemente ligadas (Cr, Mg, Pb, Zn, Ca, K e Co) exibem apenas uma extração parcial, e um terceiro grupo (V, Ni, As, Ti e Zr) que estão inteiramente retidos em frações de alta estabilidade química, e portanto, não são passíveis de extração com um procedimento brando, como o estudado.

O procedimento proposto se mostra útil, uma vez que os elementos-traço de grande interesse para caracterização do petróleo podem ser analisados com facilidade e rapidez, e de acordo com os princípios da química verde. Estes resultados servirão para direcionar novos estudos para continuar a otimização do procedimento de extração.

## AGRADECIMENTOS

A FAPES pelo financiamento, Edital 006/2014, Universal, Projeto Individual de Pesquisa, processo 67653146/2014.

Ao Laboratório de Geologia Isotópica (IG-UNICAMP) pelas análises no ICP-MS.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, S.; MAQSOOD, Z. T.; ALI, M. F. The demetallization of residual fuel oil and petroleum residue, **Petroleum Science and Technology**, v. 28, n. 17, p. 1770- 1777, 2010.

ALI, M. F.; ABBAS, S. A review of methods for the demetallization of residual fuel oils. **Fuel processing technology**, v. 87, p. 573-584, 2006.

ANP (2022) **Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural, 12/2022**, nº 148. Disponível em: https://www.gov.br/anp/pt-br/dezembro-2022.pdf. Acesso 19 set 2022.

ASTM D6470-99. **Standard Test Method for Salt in Crude Oils (Potentiometric Method)**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2020, 6p.

BAHADORI, A.; ZAHEDI, G.; ZENDEHBOUDI, S.; JAMILI, A. RETRACTED: Estimation of crude oil salt content using a simple predictive tool approach. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v.96–97, p. 68-72, 2012.

BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; NUNES, J. A.; et al. Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAA. **Talanta**, v. 76, n. 3, p. 575-579, 2008.

BATISTA, B. L.; GROTTO, D.; RODRIGUES, J. L.; et al. Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. **Analytica Chimica Acta**, v. 646, n.1-2, p. 23-29, 2009.

CASSELLA, R. J.; BRUM, D. M.; ROBAINA, N. F.; LIMA, C. F. Extraction induced by emulsion breaking: A model study on metal extraction from mineral oil. **Fuel**, v. 215, p. 592-600, 2018.

CASTRO, M. D. L.; CAPOTE, F. P. Analytical applications of ultrasound. **Techniques and instrumentation in analytical chemistry**, v. 26, p. 413, 2007.

Chevron Research Company. **Demetalation of heavy hydrocarbon oils**. Depositante: Chevron Research Company, USA, No. 901344, 1986.

COTTA, A. J. B.; ENZWEILER, J. Quantification of major and trace elements in water samples by ICP-MS and collision cell to attenuate Ar and Cl-based polyatomic ions. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, p. 1406-1413, 2009.

COTTA, A. J. B.; ENZWEILER, J. Classical and New Procedures of Whole Rock Dissolution for Trace Element Determination by ICP-MS. **Geostandards and Geoanalytical Research**, v. 36, p. 27-50, 2012.

COUTINHO, D. M.; FRANÇA, D.; VANINI, G.; et al. Understanding the molecular composition of petroleum and its distillation cuts. **Fuel**, v. 311, p. 122594, 2022.

CRAVOTTO, G.; CINTAS, P. Harnessing mechanochemical effects with ultrasound-induced reactions. **Chemical Science**, v. 3, p. 295-307, 2012.

EIDEM, P. K. **Reducing the metals content of petroleum feedstocks**. Depositante: Chevron Research Company, USA, No. 4752382, 1988.

FALLA, F. S.; LARINI, C.;LE ROUX, G. A. C.; QUINA, F. H.; MORO, L. F. L.; NASCIMENTO, C. A. Characterization of crude petroleum by NIR. **Journal of Petroleum Science and Engineering, v.** 51, n.1, p. 127-137, 2006.

FRANÇA, D.; DAYANE, M.; COUTINHO, BARRA, T. A.; XAVIER, R. S.; AZEVEDO, D. A. Molecular-level characterization of Brazilian pre-salt crude oils by advanced analytical techniques**. Fuel**, v.293, p.120474, 2021.

GARWOOD, E. P. **Onsite purification of problem petrolic liquid fuels**. Depositante: Garwood, E. P., USA, No. 3664802, 1972.

GHISI, M.; CHAVES, E. S.; QUADROS, D. P. C.; et al. Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. **Microchemical Journal**, v. 98, n. 1, p. 62-65, 2011.

GREANEY, M. A.; POLINI, P. J. **Method for demetallating petroleum streams (LAW772)**. Depositante: Exxon Research and Engineering Company, USA, No. 6007705, 1998.

HARRIS, D. **Analise Química Quantitativa**. 5 ed. Ed. LTC. Rio de Janeiro, 2001.

KAHEN, K.; STRUBINGER, A.; CHIRINOS, J R.; MONTASER, A. Direct injection high e□ciency nebulizer-inductively coupled plasma mass spectrometry for analysis of petroleum samples. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 58, p. 397-413, 2003.

KALICHEVSKY, V, A.; STAGNER, B. A. **Chemical refining of petroleum: The action of various refining agents and chemicals on petroleum and its products**. Heinhold Publishing Corporation, New York, 2º ed., 550 p.,1942.

KOSHELEVL, V. N.; KLIMOVAV Z.; STARIKOV, V. NIZOVA, S. A. New demulsifiers for petroleum preparation processes. **Chemistry and Technology of Fuels and Oils**, v. 36, n.2, p. 97-100, 2000.

KUKES, S.; BATTISTE, D. **Demetallization of heavy oils with phosphorus acid**. Depositante: Phillips Petroleum Company, USA, No. 4522702, 1985.

LIENEMANN, C. P.; DREYFUS, S.; PÉCHEYRAN, C.; DONARD, O. F. X. Trace Metal Analysis in Petroleum Products: Sample Introduction Evaluation in ICP-OES and Comparison with ICP-MS Approach. **Oil & Gas Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 69-77, 2007.

MAGALDI, T.T., NAVARRO, M.S. AND ENZWEILER, J. Assessment of dissolution of silicate rock reference materials with ammonium bifluoride and nitric acid in a microwave oven. **Geostandards and Geoanalytical Research**, v. 43, p. 189-208, 2019.

MANJUSHA, R.; SHEKHAR, R.; KUMAR, S. J. Ultrasound-assisted extraction of Pb, Cd, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn from edible oils with tetramethylammonium hydroxide and EDTA followed by determination using graphite furnace atomic absorption spectrometer. **Food Chemistry**, v. 294, p. 384-389, 2019.

MARTINS, P.; POZEBON, D.; DRESSLER, V. L.; KEMIECIKI, G. A. Determination of trace elements in biological materials using tetramethylammonium hydroxide for sample preparation. **Analytica Chimica Acta**, v. 470, n. 2, p. 195-204, 2002,

Mason, T.J.; Cintas, P. Sonochemistry. In: CLARK, J.; MACQUARRIE, D. **Handbook of Green Chemistry and Technology**, Blackwell, p. 372-396, 2002.

MDLULI, N. S.; NOMNGONGO, P. N.; MKETO, N. A critical review on application of extraction methods prior to spectrometric determination of trace-metals in oily matrices. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 1-18, 2022.

MELLO, P.A.; PEREIRA, J. S. F.; MESKO, M. F; et al. Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 746, p. 15-36, 2012.

MICHLMAYR, M. **Upgrading metal-contaminated petroleum oils containing vanadium and/or nickel**. Depositante: Chevron Research Company, USA, No. 40394321977.

MOHAMMAD, A. K.; HAMEED, A. T.; ALHAMDANY, M. A.; AZZAM, K. M. A.; TALK, G. A. A. Characterization and screening of metals, metalloids, and biomarkers in crude oil by ICP–MS/OES, and GC–MS techniques after digestion by microwave-induced combustion. **Biomedical Chromatography**, v.33, n. 4, p. e4481, 2019.

NAVARRO, M. S.; STOLFI, C. M.; COA, F.; ENZWEILER, J. **Determinação da composição inorgânica elementar da espécie *Tillandsia usneoides* por ICP-MS: comparação entre métodos de dissolução ácida e alcalina**. XIV Congresso Brasileiro de Geoquímica, Diamantina, 2013.

NELSON, J.; MCCURDY, E. **Multi-Element Analysis of Petroleum Crude Oils using an Agilent 7900 ICP-MS**. Application Note No. 5991-7826EN, 2017

NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, 2003-2010, 2012.

NURANBAEVA, B. M. Method for extraction of vanadium from oil during preparation. **International journal of chemical sciences**, v. 11, p. 73-84, 2013.

ORTEGA, G. S.; PÉCHEYRAN, C; HUDIN, G.; MAROSITS, E.; DONARD, O. F. C. Different approaches of crude oil mineralisation for trace metal analysis by ICPMS. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 250-254, 2013.

PEREIRA, J. S. F. **Desenvolvimento de métodos de preparo de amostras de petróleo e posterior determinação de elementos terras raras por ICP-MS**. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química UFSM, 2011.

PEREIRA, J.; VELASQUEZ, I. BLANCO, R.; SANCHEZ, M.; PERNALETE, C.; CANELÓN, C. **Crude Oil Desalting Process**: Advances in Petrochemicals. Ed. Patel, V., United Kingdom, Cap. 4, 19 p., 2015.

PERERA, J. M.; STEVENS, G. The Role of Additives in Metal Extraction in Oil/Water Systems. **Solvent Extraction and Ion Exchange**, v. 29, n. 3, p. 363-383, 2011.

PESSOA, H. M.; HAUSER-DAVIS, R. A.; de CAMPOS, R. C., de CASTRO, E. V. R.; CARNEIRO, M.; BRANDÃO, G. P. Determination of Ca, Mg, Sr and Ba in crude oil samples by atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical and Atomic Spectrometry**, v. 27, p. 1568-1573, 2012.

PONTES, F. V. M.; CARNEIRO, M. C.; VAITSMAN, D. S.; MONTEIRO, M. I. C.; NETO, A. A.; TRISTÃO, M. L. B.; GUERRANTE, M. F. Comparative study of sample decomposition methods for the determination of total Hg in crude oil and related products. **Fuel Processing Technology**, v. 106, p. 122-126, 2013.

ROBAINA, N. F.; FEITEIRA, F. N.; CASSELLA, A. R.; CASSELLA, R. J. Determination of chloride in Brazilian crude oils by ion chromatography after extraction induced by emulsion breaking. **Journal of Chromatography A**, v. 1458, p. 112-117, 2016.

ROCHA, J. W. S.; VICENTE, M. A.; MELO, B. N.; et al. Investigation of electrical properties with medium and heavy Brazilian crude oils by electrochemical impedance spectroscopy. **Fuel**, v. 241, p. 42-52, 2019.

SHANG, H.; LIU, Y.; SHI, J. C.; SHI, Q.; ZHANG, W. H. Microwave-assisted nickel, and vanadium removal from crude oil. **Fuel Processing Technology**, v. 142, p. 250-257, 2016.

SILVA, E. B. **Desemulsificação de emulsões de petróleo pesado utilizando líquido iônico e irradiação micro-ondas**. 2004. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Tiradentes, Aracaju, Sergipe, 2004.

SILVA, J. B. B.; BORGES, D. L. G.; VEIGA, M. A. M. S.; et al. Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrothermal atomic absorption spectrometry, using ruthenium as permanent modifier. **Talanta**, v. 60, n. 5, p. 977-982, 2003.

SMITH, H. V.; ARNOLD, K. E. **Crude Oil emulsions**. Petroleum Engineering Handbook. Ed. Bradley, H. B., 3º ed., , Cap.19, Richardson, 1992.

SOIN, A.; MARYUTINA, T. A.; ARBUZOVA, T. V.; SPIVAKOV B. Y. Sample preparation in the determination of metals in oil and petroleum products by ICP MS. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 65, n. 6, p. 571-576, 2010.

SOUZA, J. P.; CERVEIRA, C.; MICELI, T. M.; Moraes, D. P.; Mesko, M. F.; Pereira, J. S. F. Evaluation of sample preparation methods for cereal digestion for subsequent As, Cd, Hg and Pb determination by AAS-based techniques. **Food Chemistry**, v. 321, p. 126715, 2020b.

SOUZA, J. S. B.; FERREIRA JÚNIOR, J. M.; SIMONELLI, G.; SOUZA, J. R.; GÓIS, L. M. N. SANTOS, L.C.L. Removal of oil contents and salinity from produced water using microemulsion. **Journal of Water Process Engineering**, v.38, p. 101548, 2020a.

SOUZA, M. O.; RAINHA, K. P.; CASTRO, E. V. R.; et al. Análise exploratória das concentrações dos metais Na, Ca, Mg, Sr e Fe em extrato aquoso de petróleo, determinados por ICP-OES, após otimização empregando planejamento de experimentos. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 980–986, 2015.

SOUZA, M. O.; RIBEIRO, M. A.; CARNEIRO, M. T. W. D.; ATHAYDE, G. P. B.; CASTRO, E. V. R.; SILVA, F. L. F.; MATOS, W. O.; QUEIROZ, R.F. Evaluation and determination of chloride in crude oil based on the counterions Na, Ca, Mg, Sr and Fe, quantified via ICP-OES in the crude oil aqueous extract. **Fuel**, v. 154, p. 181-187, 2015.

SOUZA, R. M.; MELIANDE, A. L.S.; SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q. Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr and Co in crude oil using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions. **Microchemical Journal**, v.82, n. 2, p. 137-141, 2006.

SPEIGHT, J. G. **Handbook of petroleum analysis**, John Wiley and Sons Inc, New Jersey, 368 p., 2001.

WALKNER, C.; GRATZER, R.; MEISEL, T.; BOKHARI, S. N. H. Multi-element analysis of crude oils using ICP-QQQ-MS. **Organic Geochemistry**, v. 103, p. 22-30, 2017.

YEN, T. F. **Role of Trace Metals in Petroleum**. Ann Arbor Science Publishers, Wisconsin, 221 p., 1975.

YUN, Z.; HE, B.; WANG, Z.; WANG, T.; JIANG, G. Evaluation of different extraction procedures for determination of organic Mercury species in petroleum by high performance liquid chromatography coupled with cold vapor atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, v. 106, p. 60-65, 2013.

CAPÍTULO 11

# GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE MILHO SUBMETIDAS AO TRATAMENTO DE SEMENTES COM ÓLEOS ESSENCIAIS

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Jean Vinícius Pereira Gomes**
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas – Campus Inconfidentes,).
http://lattes.cnpq.br/2538792282287232.

**Evandro Luiz de Matos Junior**
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas – Campus Inconfidentes,).
http://lattes.cnpq.br/3854455502513901.

**Hebe Perez de Carvalho**
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas – Campus Inconfidentes,).
http://lattes.cnpq.br/0743610501316043.

**Sindynara Ferreira**
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas – Campus Inconfidentes,).
http://lattes.cnpq.br/4597715453676267.

**RESUMO:** A qualidade da semente de milho é um fator determinante que afeta diretamente o sucesso de todo o ciclo de cultivo e produção. Objetivou-se verificar se os óleos essenciais de capim-limão, botões florais de cravo, gengibre, hortelã e citronela interferem na qualidade fisiológica de sementes de milho. O experimento foi em DIC com dez tratamentos sendo cinco óleos essenciais em duas concentrações mais a testemunha sendo. Houve total inibição para germinação no tratamento com óleo essencial à base de cravo na concentração de 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$, que se diferenciou totalmente dos demais tratamentos, isto é, a porcentagem de plântulas normais ao final do teste foi zero. Os óleos essenciais de hortelã e citronela a 0,5 $\mu$L mL$^{-1}$, apresentam maior germinação quando comparado com os demais tratamentos.
**PALAVRAS-CHAVE:** Qualidade fisiológica. Compostos naturais. *Zea mays*. Concentrações. Inibição.

## GERMINATION AND GROWTH OF CORN SEEDLINGS SUBJECTED TO SEED TREATMENT WITH ESSENTIAL OILS

**ABSTRACT:** The quality of corn seed is a determining factor that directly affects the success of the entire cultivation and production cycle. The objective was to verify whether the essential oils of lemongrass, clove flower buds, ginger, mint and citronella interfere with the physiological

quality of corn seeds. The experiment was DIC with ten treatments, five essential oils in two concentrations plus the control. There was complete inhibition of germination in the treatment with clove essential oil at a concentration of 1.0 $\mu$L mL$^{-1}$, which was significantly different from the other treatments, as the percentage of normal seedlings at the end of the test was zero. The essential oils of mint and citronella at 0.5 $\mu$L mL$^{-1}$ exhibited higher germination rates when compared to the other treatments.
**KEYWORDS:** Physiological quality. Natural compounds. *Zea mays*. Concentrations. Inhibition.

## INTRODUÇÃO

A qualidade da semente de milho (*Zea mays*) é um fator determinante que afeta diretamente o sucesso de todo o ciclo de cultivo e produção. As sementes de milho, quando cuidadosamente selecionadas e baseadas em parâmetros de alta qualidade genética, física, fisiológica e sanitária, constituem a base essencial para alcançar o máximo potencial de crescimento e rendimento.

Sendo a semente considerada o mais importante insumo agrícola, por conduzir ao campo as características genéticas determinantes do desempenho da cultivar e contribuindo decisivamente para o sucesso do estabelecimento da cultura, base da produção rentável faz-se necessário a obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica para que se obtenha alta produtividade e rentabilidade (MARCOS FILHO, 2005).

A capacidade de acumulação de fotoassimilados do milho faz dele uma das plantas mais eficientes na natureza em termos de armazenamento de energia. O milho é de grande importância econômica devido às diversas formas de utilização que abrangem desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. Em termos de consumo, a maior parte do uso do milho em grãos se dá na alimentação animal, representando cerca de 70% do consumo global do cereal (EMBRAPA, 2021).

Para a safra 2022/23, a previsão da Companhia Nacional de Abastecimento - Conab é de que a produção total de milho alcance 124,7 milhões de toneladas, o que representa um aumento esperado de 10,2% em relação à safra anterior. Esse aumento se deve ao crescimento da área plantada de milho segunda safra, bem como à recuperação da produtividade prevista nas três safras. É importante ressaltar que, de acordo com a Conab, espera-se um aumento de 2,1% na área plantada e de 7,9% na produtividade do setor (CONAB, 2023).

Utilizar sementes de qualidade é crucial para elevar a produtividade agrícola, uma vez que elas contêm todo o potencial da planta e podem determinar o sucesso ou fracasso da produção. Entretanto, a qualidade das sementes é resultado de parâmetros genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, os quais devem garantir a emergência uniforme e ágil de plântulas diante de distintas condições ambientais (MARCOS FILHO, 2015).

Nos últimos dez anos, houve uma crescente atenção à pesquisa de produtos naturais derivados de plantas, tais como extratos vegetais e óleos essenciais (OEs), que

demonstraram possuir propriedades antimicrobianas eficazes. Essa área de estudo tem sido impulsionada pela busca por alternativas mais sustentáveis aos produtos químicos, resultando em um aumento significativo na quantidade de trabalhos realizados nessa área nos últimos anos (NASCIMENTO et al., 2021).

Desta forma, a germinação é o primeiro estágio do desenvolvimento da planta e sua eficiência pode afetar diretamente o crescimento e produtividade da lavoura. O uso de óleos essenciais na agricultura tem sido objeto de extensas pesquisas visando oferecer uma alternativa viável para reduzir a exposição da população humana e do meio ambiente a compostos químicos.

Nesse sentido, avaliar a eficácia dos óleos essenciais na germinação do milho pode contribuir para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis e seguras. Desse modo, o estudo proposto pode trazer benefícios tanto para a produção agrícola quanto para o meio ambiente e a saúde humana.

Assim, objetivou-se com o trabalho verificar se os óleos essenciais de capim-limão, botões florais de cravo, gengibre, hortelã e citronela interferem na qualidade fisiológica de sementes de milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes do IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. As sementes de milho MI-17 utilizadas foram doadas pela Casa Comunitária de Sementes “Mãe Terra”, e foram submetidas à desinfestação com uma solução composta por 1 mL de hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% diluído em 100 mL de água. As sementes foram imersas na solução por um período de 3 minutos, seguido de enxágue em água corrente.

Os óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*), botões florais de cravo (*Eugenia caryophyllus*), gengibre (*Zingiber officinale*), hortelã (*Mentha piperita*) e citronela (*Cymbopogon citratus*) utilizados no experimento, foram adquiridos da empresa Ferquima Indústria e Comércio Ltda.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com dez tratamentos sendo cinco óleos essenciais em duas concentrações (0,5 e 1 µL $mL^{-1}$) mais a testemunha (0 µL $mL^{-}$ 1), sendo: T1: testemunha - água destilada esterilizada (0 µL $mL^{-1}$); T2: capim-limão (0,5 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®, T3: botões florais de cravo (0,5 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T4: gengibre (0,5 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T5: hortelã (0,5 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T6: citronela (0,5 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T7: capim-limão (1 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®, T8: botões florais de cravo (1 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T9: gengibre (1 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T10: hortelã (1 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®; T11: citronela (1 µL $mL^{-1}$) + 1 mL de Tween 20®.

As sementes foram imersas em 100 mL de água junto com 1 mL de Tween 20® e as

doses de (0,5µL mL$^{-1}$ e 1 µL mL$^{-1}$) por 5 minutos nos distintos tratamentos e concentrações e posteriormente as sementes foram escorridas e secadas com papel absorvente. O Tween 20® foi utilizado para facilitar a emulsificação dos óleos em água (JARDINETTI et al., 2011).

O teste de germinação foi conduzido em rolo de papel toalha, tipo germitest, sendo distribuídas 50 sementes por rolo, totalizando 200 sementes por tratamento. Os rolos de papel toalha, referente a cada tratamento, foram esterilizados e umedecidos com água destilada esterelizada na proporção 2,5 vezes o peso do papel seco e acondicionados em sacos plásticos dentro de bandejas e incubados em BOD a 25ºC por 7 dias. A primeira contagem foi realizada aos 4 dias após semeadura e a contagem final aos 7 dias após semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, plântulas anormais, sementes duras, sementes dormentes e sementes mortas, de acordo as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009).

Os parâmetros de germinação e vigor, incluindo primeira contagem, índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântulas e raiz, foram empregados para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, sendo o IVG efetuado por meio de contagens diárias do número de plântulas normais desde a emergência da primeira e o cálculo conforme metodologia de Maguire (1962).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa Sisvar (FERREIRA, 2019), e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis germinação, IVG, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz (Tabela 1).

| Tratamentos* | %G | IVG | CPA | CR |
|---|---|---|---|---|
| Cravo (1,0 µL mL$^{-1}$) | 0,00 d | 0,0833 e | 0,0000 g | 0,0000 h |
| Cravo (0,5 µL mL$^{-1}$) | 25,00 c | 3,9856 c | 4,6712 d | 9,4439 c |
| Gengibre (1,0 µL mL$^{-1}$) | 40,00 c | 2,9404 c | 2,9431 e | 7,8496 d |
| Gengibre (0,5 µL mL$^{-1}$) | 24,50 c | 4,5833 c | 4,5058 d | 10,5948 b |
| Citronela (1,0 µL mL$^{-1}$) | 27,00 c | 1,9285 d | 2,0194 f | 3,3691 g |
| Citronela (0,5 µL mL$^{-1}$) | 55,50 b | 5,2975 c | 10,0328 a | 6,6010 e |
| Capim-limão (1,0 µL mL$^{-1}$) | 30,50 c | 3,1452 c | 4,6082 d | 10,8158 b |
| Capim-limão (0,5 µL mL$^{-1}$) | 41,50 c | 3,9225 c | 5,0142 c | 11,8159 a |
| Hortelã (1,0 µL mL$^{-1}$) | 35,50 c | 2,5356 d | 2,8726 e | 4,2568 f |
| Hortelã (0,5 µL mL$^{-1}$) | 75,00 a | 7,5487 b | 5,4990 b | 11,6190 a |
| Testemunha (0 µL mL) | 55,00 b | 9,3779 a | 4,8123 d | 10,4293 b |

| **Média Geral** | 37,22 | 4,1226 | 4,2708 | 7,8905 |
|---|---|---|---|---|
| **CV**(%)** | 33,46% | 28,93% | 10,09 % | 7,49 % |

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

**CV: Coeficiente de variação (em porcentagem).

Tabela 1 - Médias para porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento radicular (CR) para os diferentes tratamentos utilizados. IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2023.

Fonte: Dos autores (2023).

No que se refere à germinação, observa-se que houve sua total inibição para o tratamento com óleo essencial à base de cravo na concentração de 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$, que se diferenciou totalmente dos demais tratamentos, isto é, a porcentagem de plântulas normais ao final do teste foi zero. Dados contrastantes foram encontrados por Dias et al. (2021), que ao estudarem o efeito de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho crioulo, verificaram que o óleo de cravo não influenciou na germinação das sementes. Em contrapartida, a germinação para os tratamentos com gengibre (0,5 e 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), cravo (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$), citronela (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), capim-limão (0,5 e 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) e hortelã (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) não se diferenciaram estatisticamente entre si.

A maior porcentagem de germinação foi verificada no tratamento hortelã a 0,5 $\mu$L mL$^{-1}$, com valor igual a 75%, o que mostra a viabilidade do óleo essencial para a manutenção da germinação.

Por outro lado, em relação ao IVG, houve diferença significativa entre os tratamentos, com destaque para o óleo essencial de cravo a 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$, que se diferenciou totalmente dos demais, apresentando menor valor de IVG e germinação, pois sementes germinadas não é igual sementes com plântulas normais, as sementes germinadas tem protrusão radicular com pelo menos dois centímetros e o IVG contabiliza essas sementes ou seja as sementes anormais também entram nessa contagem pois essas sementes germinaram mas não desenvolveram as estruturas suficientes para serem classificadas como plântulas normais. Nesse caso, houve destaque também para a testemunha, que apresentou maior IVG, seguida do óleo à base de hortelã na concentração a 0,5 $\mu$L.\ mL$^{-1}$, que teve o maior valor de IVG dentre os tratamentos que receberam algum óleo essencial. De acordo com os dados obtidos no trabalho de Gomes et al. (2019), o tratamento com andiroba (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) proporcionou maior IVG. Comportamento semelhante foi verificado por Dias et al. (2021), em que encontraram que os óleos essenciais de alecrim, cravo, eucalipto e girassol resultaram em IVGs mais elevados em comparação com os outros tratamentos.

Para o IVG os tratamentos com citronela (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) e hortelã (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) resultaram em menores IVGs quando comparados com os óleos essenciais de gengibre (0,5 e 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), capim-limão (0,5 e 1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), citronela (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$), cravo (0,5 $\mu$L

mL$^{-1}$) nas suas respectivas doses diferindo da testemunha, sendo assim, mostram que esses tratamentos afetam a velocidade de germinação das sementes de milho. Dias et al. (2021) usaram óleos essenciais para averiguar a qualidade fisiológica das sementes de milho crioulo onde obtiveram o resultado de que o IVG foi significativamente reduzido com óleos essenciais de olíbano e lavanda. Gomes et al. (2019) observaram em seu estudo com sementes de sementes de pata de vaca (*Bauhinia variegata Linn.*), que os óleos essenciais que resultaram menores valores de IVG foram as sementes que receberam óleo essencial de canela e de manjericão nas concentrações de 1,0 e 1,5 µL.

Pode-se observar na Tabela 1, que o tratamento que recebeu o óleo essencial de citronela (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$) se destacou em relação ao CPA quando comparado com os demais tratamentos. Os tratamentos com óleos essenciais de citronela (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), hortelã (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) e gengibre (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) demonstraram resultados inferiores em comparação com os demais tratamentos, com valores variando entre 2,0194 e 2,943 cm plântula$^{-1}$. Em pesquisa realizada por Alves et al. (2004), em que estudaram o efeito do tratamento de sementes de alface com os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), alecrim pimenta (*Lippia sidoides*), capim citronela (*Cymbopogon citratus*), cravo-da-índia (*Ocimum gratissimum*) e jaborandi (*Policarpus microphyllus*), constataram um efeito alelopático vinculado a concentração dos óleos essenciais diminuindo ou aumentando o crescimento das plântulas de alface, para a maioria dos óleos estudados, com exceção ao óleo de jaborandi, que promoveu o crescimento das plântulas.

Em relação ao CR os tratamentos com capim-limão (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$), hortelã (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$), capim-limão (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), gengibre (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$) e testemunha obtiveram melhores resultados quando comparados com os outros tratamentos, demonstrando viabilidade na sua utilização. Dias et al. (2021), observaram que o tratamento com óleo de alecrim resultou no maior CR quando comparado aos demais tratamentos.

## CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de hortelã (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$) e citronela (0,5 $\mu$L mL$^{-1}$) apresentam maior germinação quando comparado com os demais tratamentos. Os óleos essenciais de cravo (1,0 e 0,5 $\mu$L mL$^{-1}$), gengibre (1,0 e 0,5 $\mu$L mL$^{-1}$), citronela (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$), capim-limão (1,0 e 0,5 $\mu$L mL$^{-1}$) e hortelã (1,0 $\mu$L mL$^{-1}$) inibem a germinação das sementes de milho.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes pela infraestrutura cedida para o trabalho.

## REFERÊNCIAS

ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.M.; INNECCO, R.; TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - Conab. **Boletim da safra de grãos**: 6º levantamento - safra 2022/23. 2023. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos. Acesso em: 24 mar. 2023.

DIAS, F. H. C.; NUNES, M. S.; SILVA, E.; SILVA, E. G. F.; SILVA, H. F.; NASCIMENTO, L. C. Efeito dos óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho crioulo. **Scientific electronic archives**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 10-18, 30 ago. 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – Embrapa. **Importância Socioeconômica**. 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/pre-producao/socioeconomia/importancia-socioeconomica. Acesso em: 24 mar. 2023.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Sistema de análise de variância, 5.3. **Revista Brasileira de Biometria**, Lavras, 2019.

GOMES, R. S. S.; FARIAS, O. R.; DUARTE, I. G.; SILVA, R. T.; CRUZ, J. M. F. L.; NASCIMENTO, L. C. Qualidade de sementes de *Bauhinia variegata* tratadas com óleos essenciais. **Pesquisa florestal brasileira**, *[S. l.]*, v. 39, n. 1, 2019.

JARDINETTI, V. do A.; CRUZ, M. E. da S.; MAIA, A. J.; OLIVEIRA, J. S. B.; SANTOS, E. M. dos. Efeito de óleos essenciais no controle de patógenos e na germinação de sementes de milho (*Zea mays*). *In:* Encontro Internacional de Produção Científica (EPCC), 8., 2011, Maringá. **Anais**[...] Maringá: Cesumar, 2011. 5 p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, v. 12, 2005, 495 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2. ed. Londrina: Abrates, 2015, 659p.

NASCIMENTO, D. M.; RIBEIRO JUNIOR, M. R.; SANTOS, Paula L.; PEREIRA, A. E.; KRONKA, A. Z. Óleos essenciais no tratamento de sementes. **Revisão anual de patologia de plantas**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 77-90, 2021.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington D.C., v.30, n.3, p.507-512, 1974.

# CAPÍTULO 12

# HIBRIDAÇÃO EM MELÃO (*Cucumis melo* L. var. *momordica*)

*Data de submissão: 10/01/2024* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Ricardo de Normandes Valadares**
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
Recife – PE
http://orcid.org/0000-0002-7216-3648

**Jordana Antônia dos Santos Silva**
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE
http://orcid.org/0000-0001-6130-9122

**RESUMO:** A hibridação artificial em programas de melhoramento genético de plantas é realizada para explorar a variabilidade genética nas progênies e o vigor híbrido na geração F1. Nesse contexto, o objetivo deste capítulo foi descrever as principais etapas da obtenção de híbridos F1 em melão, *Cucumis melo* var. *momordica,* desde a autofecundação até a hibridação artificial, sob condições de casa de vegetação. Os híbridos obtidos podem ser avaliados em diferentes sistemas de cultivo, locais e para resistência ou tolerância a fatores bióticos e abióticos, visando explorar ao máximo a heterose e as vantagens dos híbridos F1.
**PALAVRAS-CHAVE:** *Cucumis melo* L.*;* heterose; vigor híbrido; linhagens

## HYBRIDIZATION IN MELON (*Cucumis melo* L. var. *momordica*)

**ABSTRACT:** In order to exploit the genetic variability of the progeny and to know the hybrid vigour in the F1 generation, artificial hybridization is carried out in plant breeding programmes. In this context, the aim of this chapter was to describe the main stages in obtaining F1 hybrids in melon, *Cucumis melo* var. *momordica*, from self-fertilization to artificial hybridization under greenhouse conditions. The hybrids obtained can be evaluated in different cropping systems, production zones and to obtain resistance or tolerance to biotic and abiotic factors, in order to maximise heterosis and the advantages of F1 hybrids.
**KEYWORDS:** *Cucumis melo* L.; heterosis; hybrid vigour; lines.

## 1 I INTRODUÇÃO

O melão, *Cucumis melo* L., é uma olerícola pertencente à família Cucurbitaceae e gênero *Cucumis*. A espécie *C. melo* L. é subdividida nas

subespécies *melo* e *agrestis* (JEFFREY, 1980). Os frutos são a parte da planta explorada comercialmente e de grande importância econômica no Brasil e no Mundo, botanicamente classificados como hortaliça, mas, comercializados como fruta.

Os frutos apresentam grande variabilidade fenotípica para o formato, tamanho, sabor, coloração da polpa e casca (LUAN et al., 2010). Devido essa variabilidade fenotípica, foram sugeridas ao longo dos tempos diversas classificações intraespecíficas para *C. melo* L, sendo a primeira delas sugeridas por Naudim em 1859. Uma das classificações mais recentes e utilizada na literatura propôs a divisão da subespécie *melo* em 10 variedades botânicas, são elas, *cantalupensis*, *inodorus*, *reticulatus*, *adana*, *dudaim*, *flexuosus, ameri, chandalak, chate e chito)* e a subespécie *agrestis* em seis, *momordica, tibish, conomon, chinensis, makuva* e *acidulus* (PITRAT et al., 2000). Os diferentes grupos botânicos de *C. melo* L. podem ser cruzados entre si, sem nenhuma barreira de incompatibilidade genética (ARAGÃO, 2011).

Das variedades descritas por Pitrat et al., (2000), apenas três são consideradas importantes do ponto de vista econômico; *inodorus*, *cantalupensis* e *reticulatus,* nessas estão inclusos os “tipos varietais” (tipo de classificação comercial) mais cultivados e comercializados, entre eles os melões Amarelo, Pele de Sapo, Honey Dew (*inodorus*), Charentais (*reticulatus*), Cantaloupe e Gália (*cantalupenis*) (ARAGÃO, 2011).

Outras variedades botânicas, são encontradas em diferentes áreas do Brasil. Essas variedades são adaptadas a diversas condições edafoclimáticas (TORRES FILHO et al., 2009) e têm sido cultivadas ao longo dos tempos, na sua maioria em “roças”, constituindo-se em importantes fontes de germoplasma úteis aos programas de melhoramento genético. Os melões pertencentes a variedade *momordica,* conhecidos vulgarmente por “*phut”* ou *“snap melon*” nas regiões tropicais e subtropicais da Índia, constituem em um desses tipos crioulos encontrados no Brasil. Esses frutos, dependendo do local, *são conhecidos* popularmente por melão papoco, meloite, melão da neve, melão caxi, melão vitamina e etc. Apresentam variabilidade fenotípica e como característica marcante, a ruptura dos frutos quando maduros, baixo teor de sólidos solúveis e são aromáticos (VALADARES et al., 2017).

Devido ao sabor naturalmente insípido, os melões da variedade *momordica* são consumidos *“in natura”* acompanhados de açúcar, mel ou outros adoçantes, além de poderem ser utilizados para o preparo de sucos, saladas e picles quando maduros ou cozidos quando imaturos (VALADARES et al., 2017). Além dos atributos culinários, são citados como fonte de resistência genética a múltiplas pragas e doenças, entre elas *Fusarium oxysporium, Podosphaera xanthii*, *Meloidogyne incógnita*, PRSV (*Papaya Ring Spot Vírus*) (DHILLON et al., 2007), *Myrothecium roridum* (NASCIMENTO et al., 2012), *Liriomyza trifolii* Burgess e *Aphis gossypii* (FERGANY et al., 2011).

O interesse na hibridação de melões da variedade *momordica* em programas de melhoramento se dá por duas razões, a primeira visando a exploração da heterose na

geração F1 e a segunda, visando a exposição e exploração da variabilidade genética nas progênies F2, com isso, promover a seleção artificial de genótipos superiores para tolerância e resistência a fatores abióticos e bióticos de importância para *C. melo* L.

A variedade *momordica* por se tratar de espécie alógama, a hibridação entre indivíduos ocorre naturalmente, mantendo a alta heterozigose e variabilidade genética na população. Todavia, a hibridação pode ser realizada entre indivíduos homozigotos, obtidos por autofecundações sucessivas e cruzados artificialmente, todos os processos controlados para evitar contaminação genética.

Diante do exposto, o objetivo deste capitulo é mostrar as principais etapas da obtenção convencional de linhagens e cruzamento manual para obtenção de híbridos F1 em melão da variedade *momordica*.

## FORMA DE REPRODUÇÃO

O melão, *C. melo* L., trata-se de uma espécie alógama, ou seja, se reproduz por fecundação cruzada ao acaso e natural. As plantas podem apresentar flores masculinas, femininas e hermafroditas, podendo expressar quatro diferentes tipos de expressão sexual controladas por dois pares de genes: *Mm* e *Gg*. Plantas monóicas: *MMGG*; as andromonóicas: *mmGG*; as ginóicas: *MMgg* e as hermafroditas: *mmgg*, sendo que a maior parte das cultivares comerciais pertencem ao grupo das andromonóicas (MAROTO, 1995; COSTA e PINTO, 1977).

O melão da variedade *momordica* pertence ao grupo das monóicas (VALADARES et al., 2018). Plantas monóicas emitem flores masculinas e femininas separadas na mesma planta (Figura 1). As flores masculinas surgem, em grande quantidade partir de 12 dias após a semeadura, predominantemente na haste principal. Após o início do florescimento masculino, surgem nos ramos secundários e terciários, em menor quantidade, as flores femininas.

Figura 1. Flores masculinas e femininas.

Fonte: Autores.

Assim, como em outras variedades botânicas de melão, a quantidade de flores femininas em relação as masculinas são menores. Podendo ocorrer, dependendo da fase de florescimento alteração dessa proporção. Fatores como o hormonal e ambiental influenciam na expressão sexual. Geralmente em condições de dias longos e baixas temperaturas ocorre um acréscimo no aparecimento de flores femininas ou hermafroditas em relação às masculinas, o contrário acontece quando em condições de temperaturas mais elevadas e fotoperíodo curto estimulam uma maior frequência de flores masculinas (ALVARENGA e RESENDE, 2002).

A polinização é exclusivamente realizada por insetos, principalmente abelhas *Apis mellifera*, existindo alta correlação positiva entre a quantidade de visitas dos insetos e do pólen depositado no estigma, com o número de sementes e tamanho dos frutos produzidos. Logo, quanto maior for o número de sementes, maior será o tamanho do fruto (HECHT, 1993).

## OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE LINHAGENS

A homozigose na variedade *momordica* pode ser alcançada após 5 ou mais gerações de autofecundações sucessivas e controladas. Nesta variedade, que possui expressão sexual do tipo monóica, as autofecundações são realizadas manualmente, depositando no estigma de uma flor feminina, quantidade suficiente de grãos de pólen coletados nas flores masculinas da mesma planta ou friccionando as anteras das flores masculinas com o estigma das flores femininas, em proporção suficiente para garantir o sucesso da polinização. Esse processo é realizado de forma controlada para evitar a ocorrência de contaminação genética.

Sob condições de casa de vegetação, os procedimentos para a realização das autofecundações iniciam no dia anterior, com a proteção das flores masculinas e femininas em pré-antese nas plantas selecionadas (Figura 2). No dia das autofecundações, preferencialmente no início do dia e logo após a abertura das flores, faz-se a coleta de quantidade suficiente de flores masculinas, protegidas no dia anterior.

Figura 2. Flores masculinas e femininas protegidas com cápsula de gelatina.

Fonte: Autores.

Após a coleta das flores, retira-se as pétalas e expõe as anteras. Em seguida, mantem as anteras da flor masculina em contato com o estigma da flor feminina, anteriormente selecionada e protegida, e fricciona levemente. Após faz-se a proteção e identificação.

Após três dias, o desenvolvimento do ovário ou queda da flor autofecundada indicará que houve ou não sucesso. Os frutos provenientes das autofecundações são colhidos maduros, e as sementes extraídas manualmente, lavadas em água corrente, secas à sombra e em armazenadas em câmara fria e seca até a semeadura.

Quando o objetivo é a obtenção de híbridos, o conhecimento e a investigação quanto ao desempenho destas linhagens *per se*, e em combinações híbridas são de fundamental importância. Nessa fase, o uso de cruzamentos dialélicos têm sido utilizados (COSTA et al., 2019) e por se mostrarem bastante eficientes (RAMALHO et al., 1993). Entre as metodologias de análise dialélica mais comumente utilizadas, estão as de HAYMAN (1954), GRIFFING (1956) e GARDNER e EBERHART (1966), essas metodologias têm por finalidade analisar o delineamento genético, provendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de genitores para hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (CRUZ et al., 2012). Por meio da análise dialélica, é possível também estimar a heterose existente nos híbridos que normalmente está associada à diferença de frequências alélicas entre os genitores, atribuída possivelmente a efeitos de dominância e/ou epistasia dos caracteres (CRUZ e VENCOVSKY, 1989, HALLAUER et al., 2010).

## HIBRIDAÇÃO CONVENCIONAL

A obtenção de híbridos de melão da variedade *momordica* pode ser obtido mediante cruzamento de dois ou mais indivíduos selecionados (*top crosses*). Sob condições de casa de vegetação, os procedimentos para a realização das fecundações cruzadas manuais iniciam no dia anterior, com a proteção das flores masculinas e femininas, nas plantas selecionadas (Figura 2). No dia seguinte, nas primeiras horas do dia, coleta-se as flores masculinas e retira-se as pétalas e sépalas expondo as anteras. Imediatamente, nas plantas do genitor feminino, retira-se a proteção da flor e realiza a polinização, friccionando suavemente as anteras da flor masculina no estigma da flor feminina (Figura 3).

É importante que a polinização seja realizada de modo a depositar uma quantidade suficientemente de grãos de pólens para garantir a formação do fruto e de grande quantidade de sementes. As flores que receberam os grãos de pólens são protegidas e o cruzamento etiquetado (Figura 3). Após três dias, o desenvolvimento do ovário ou queda da flor que recebeu os grãos de pólens indicará se houve ou não sucesso das hibridações.

Figura 3. Polinização artificial, proteção e identificação do cruzamento

Fonte: Autores.

Os frutos provenientes dos cruzamentos são colhidos maduros e as sementes extraídas manualmente, lavadas em água corrente, secas à sombra e em armazenadas em câmara fria e seca até o momento da semeadura (Figura 4).

Figura 4. Frutos no ponto de maturação

Fonte: Autores.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os híbridos obtidos podem ser avaliados em diferentes condições de cultivo, locais e para resistência ou tolerância a fatores abióticos e bióticos de importância para *C. melo* e outras características de interesse agronômico visando explorar ao máximo a heterose e as vantagens dos híbridos F1.

## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, M.A.R.; RESENDE, G.M. **Cultura do melão**. Lavras: UFLA, 2002. 149 p. (Textos Acadêmicos, 20).

ARAGÃO, F. A. S. **Divergência genética de acessos e interação genótipo x ambiente de famílias de meloeiro**. 2011. 107p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró-RN, 2011.

COSTA, C. P.; PINTO, C. A. B. P. Melhoramento do melão. In: **Melhoramento de Hortaliças**. Piracicaba: USP/ESALQ, 1977. p.161-165.

CRUZ, CD.; VENCOVSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. **Revista Brasileira de Genética, v.**12, p. 425-38, 1989.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético, 4ª edição**. Editora UFV. 2012. 514 p.

CRUZ, C.D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 188p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1990.

DHILON, N.P.S.; RANJANA, R.; SINGH, K.; EDUARDO, I.; MONFORTE, A.J.; PITRAT, M.; DHILON, N.L.; SINGH, P.P. Diversity among landraces of Indian snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). **Genetics Resources Crop Evolution**, v. 54, n.6, p. 1267-1283, 2007.

FERGANY, M.; KAUR, B.; MONFORTE, A.J.; PITRAT, M.; RYS, C.; LECOQ, H. DHILLON, N.P.S.; DHALIWAL, S.S. Variation in melon (*Cucumis melo*) landraces adapted to the humid tropic of southern India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 2, p. 225-243, 2011.

GARDNER, O.G. Estimates of genetic parameters in cross fertilizing plants and their irnplications in plant breeding. In: HANSON, W.D.; ROBINSON, H.F. (Eds). **Statistical-genetics and plant breeding**. Washington: National Academy of Science, p.225-252, 1963.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences 9**: 463-493. 1956.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Iowa State University Press, Ames. 1981. 468p.

HAYMAN, B.I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics, Bethesda 39**: 789- 809. 1954.

HECHT, D. Cultivo del melon. In: **Siminario Internacional sobre produción de hortalizas em diferentes condiciones ambientales**. Shefaim - Israel, 1993, 19p.

JEFFREY, C. **A review of the cucurbitaceae**. Botanic Journal Linneus Society, v. 81, n.2., p. 233-247, 1980.

LUAN, F.; SHENG, Y.; WANG, Y.; STAUB, J.E. Performance of melon hybrids derived from parents of diverse geographic Origins. **Euphytica**, v. 173, n.1, p. 1-16, 2010.

MAROTO, J.V. Botanica, fisiologia y adaptabilidade del melon. In: MAROTO, J.V. **Cultivo del melon**. Valencia: Fundacion Caja Rural, 1995, p. 13-17.

NASCIMENTO, I.J.B.; NUNES, G.H.S.; SALES JÚNIOR, R.; SILVA, K.J.P.; GUIMARÃES, I.M.; MICHEREFF, S.J. Reaction of melon accessions to crater rot and resistance inheritance. **Horticultura Brasileira**. n. 30, p. 459-465. 2012.

COSTA, Í.J.; VALADARES, R.N.; NÓBREGA, D.A.; MENDES, A.Q.; SILVA, F.S.; MENEZES, D. Heterose e capacidade de combinação de genótipos de melão do grupo *Momordica*. **Jornal de Agricultura Experimental Internacional**, v. 30, n. 3, p. 1–9. 2019.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. Some comments on interspecific classification of cultivars of melon. Acta Horticulturae, v. 510, p. 29-36, 2000.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P.; SOUZA, E.A.; GONÇALVES, F.M.A.; SOUZA, J.C.; **Genética na Agropecuária**. 5ª Ed., Editora UFLA, 2012, 565p.

TORRES FILHO, J.; NUNES, G.H.S.; VASCONCELOS, J.J.C. Caracterização morfológica de acessos de meloeiro coletados no nordeste brasileiro. **Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 174-181, 2009.

VALADARES, RN.; MELO, R.A.; SILVA, J.A.S.; ARAÚJO, A.L.R.; SILVA, F.S.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; MENEZES, D. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações em acessos de melão do grupo *momordica.* Horticultura Brasileira, v. 35, n. 4, p. 557-563, 2017.

VALADARES, R.N.; MELO, R.A.; SARINHO, I.V.F.; OLIVEIRA, N.S.; ROCHA, F.A.T.; SILVA, J.W.; MENESES, D. Genetic diversity in accessions of melon belonging to momordica group. **Horticultura Brasileira**, v. 36, n.2, p. 253-258, 2018.

# CAPÍTULO 13

# MANIFESTAÇÕES OCULARES DO HERPESVÍRUS FELINO-1

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Emerson Ticona Fioretto**

**Nicole Canabarro**

**Vitória Baruc Santos Menezes**

**Eduardo Fernandez de Santana**

**Ana Carolina Guimarães Faleiros**

**RESUMO:** O herpesvírus felino 1 (HVF-1) é responsável pelo desenvolvimento de doenças do trato respiratório superior e doenças oculares em felinos domésticos e silvestres em todo o mundo. Animais jovens e adolescentes apresentam maior risco de desenvolvimento de infecção primária pelo HVF-1. De modo geral, as manifestações clínicas oculares mais comuns são conjuntivite, ulceração da córnea, ceratite, dor e cegueira. É comum a falta de especificidade nos sinais clínicos, sendo comum a outras doenças oculares. Adicionalmente, as vacinas comerciais não promovem proteção completa aos animais ou ao desenvolvimento latente além do fato de propagar-se inclusivamente em animais selvagens ou silvestres. A infecção presente nas conjuntivas nasal, oral e ocular são observadas, havendo eliminação do vírus por meio das secreções destes sistemas por 1 a 3 semanas após a infecção. O contágio ocorre pelo contato direto entre os animais e as secreções respiratórias, por meio dos espirros, fômites contaminados ou práticas de manuseio anti-higiênicas. Os riscos de infecção e reinfecção estão diretamente ligados a densidade populacional de animais no ambiente e pelo grau de encontro com outros animais, podendo resultar em nova eliminação viral subclínica, na qual o animal não apresenta sinais clínicos, ou eliminação com sintomatologia menos grave. Assim, é possível identificar que durante a infecção por HVF-1 a sintomatologia ocular variada associada à gravidade dos sinais clínicos e à carga viral torna o diagnóstico ocular um grande desafio para o médico veterinário. Deste modo, neste capítulo veremos que o HVF-1 pode desenvolver amplo espectro de doenças oculares e perioculares, seja na infecção primária ou na recidiva, sendo possível a observação de oftalmia neonatal, conjuntivite, ceratite podendo apresentar ulceração dendrítica ou ulceração geográfica da córnea ou estromal crônica, simbléfaro, sequestro da córnea, conjuntivite eosinofílica associada a ceratite, ceratoconjuntivite seca, ceratopatia de banda calcificada, dermatite periocular e uveíte anterior ocular.

**PALAVRAS-CHAVE:** Herpesvírus Felino tipo 1; manifestações oculares; características clínicas.

## INTRODUÇÃO

O herpesvírus felino 1 (HVF-1) é responsável pelo desenvolvimento de doenças do trato respiratório superior e doenças oculares em felinos domésticos em todo o mundo, com taxas de exposição de até 97% sendo que 80% dos animais permanecem infectados persistentemente. É classificado na Ordem: *Herpesvirales*, Família: *Herpesviridae*, Subfamília: *Alphaherpesvirinae* e gênero: *Varicellovirus*. Caracteriza-se por ser um vírus de fita dupla que apresenta curto ciclo de replicação, rápida disseminação célula a célula com tendência a induzir autólise e persistência nos gânglios sensoriais de seu hospedeiro (MAGGS et al., 1999; ANDREW, 2001; STILES & POGRANICHNIY, 2007; GOULD, 2011; MAES, 2012; TOWNSEND et al., 2013).

No sistema respiratório o HVF-1 pode causar rinotraqueíte felina, com sinais clínicos incluindo secreção nasal, rinossinusite, traqueíte, podendo envolver ulceração oral, mal-estar e febre. Não obstante, há relato de aborto ao longo da infecção (TIZARD, 2020).

Animais jovens e adolescentes apresentam maior risco de desenvolvimento de infecção primária pelo HVF-1. As manifestações clínicas oculares mais comuns são conjuntivite, ulceração da córnea, ceratite, dor e cegueira. É comum a falta de especificidade nos sinais clínicos, sendo comum a outras doenças oculares (CAI et al., 2001), o que dificulta o diagnóstico para a determinação da causa e a direção do tratamento. Além disso, devido a persistência do vírus no indivíduo, a recorrência dos sinais clínicos encarece o tratamento, uma vez que 45% dos animais infectados disseminam o vírus espontaneamente ou como resultado de situações de estresse natural enquanto cerca de 70% disseminarão o vírus em resposta à administração de corticosteróides (ANDREW, 2001; GOULD, 2011). Adicionalmente, as vacinas comerciais não promovem proteção aos animais ou ao desenvolvimento latente (LEE et al., 2023), fato este que remete a uma importante problemática de saúde destes animais cuja população aumenta significativamente, além do fato de propagar-se inclusivamente em animais selvagens ou silvestres (MARINO et al., 2021; MUNSON, et al, 2004, WU et al., 2022).

## PATOGENIA

O DNA do herpesvírus foi detectado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tecidos oculares felinos, tanto em animais doentes como nos considerados clinicamente normais (STILES et al., 1997a,b; NASISSE et al., 1998; BURGESSER et al., 1999).

Observa-se que o HVF-1 apresenta pouca variação genômica com apenas três

principais grupos genotípicos reconhecidos. Contudo, estudos experimentais determinam que há variação na virulência entre grupamentos isolados da mesma cepa, o que pode estar relacionado a variação da gravidade dos sinais clínicos (ZICOLA et al., 2009; GOULD, 2011).

A infecção presente nas conjuntivas nasal, oral e ocular são observadas, havendo eliminação do vírus por meio das secreções destes sistemas por 1 a 3 semanas após a infecção (GASKELL & DAWSON, 1998).

## TRANSMISSÃO

Considera-se que o HVF-1 é instável no meio ambiente. Apresenta meia vida em torno de 18h em ambiente úmido e menor tempo em ambiente seco. Sendo susceptível a maioria dos desinfetantes, antissépticos e detergentes. Assim sendo, o contágio ocorre pelo contato direto entre os animais e as secreções respiratórias, por meio dos espirros, fômites contaminados ou práticas de manuseio anti-higiênicas (STILES, 2000).

## INFECÇÃO PRIMÁRIA E OS SINAIS CLÍNICOS

Conforme já dito anteriormente, gatos filhotes e adolescentes são os animais mais suscetíveis a infecção primária, devido ao decréscimo dos anticorpos maternos em torno de 8 semanas de idade e a limitação da eficiência das vacinas. O protocolo vacinal em gatos filhotes recomenda a vacinação inicial por volta de 8 semanas de vida, próximos de completar 60 dias de vida. As vacinas comercialmente disponíveis apresentam cobertura para rinotraqueíte felina que é provocada pelo HVF-1, no entanto foi observado que gatos vacinados continuam apresentando risco de contaminação porque as vacinas, parentéricas e/ou intranasais, conferem apenas imunidade parcial contra os sinais clínicos e nenhuma proteção contra reativação/eliminação (STILES, 2000).

O HVF-1 infecta células mucoepiteliais das amígdalas, conjuntiva e mucosa nasais e significativamente as células epiteliais da córnea (GASKELL & POVEY, 1979; NAISSE et al., 1989). Observa-se alta ação citolítica consequente da rápida replicação e ao dano celular agudo. Os sinais oculares associados a esta fase são conjuntivite aguda e ceratite epitelial caracterizada pela formação de úlceras epiteliais puntiformes e dendríticas (STILES, 2000).

## RECIDIVA

Os riscos de infecção e reinfecção estão diretamente ligados a densidade populacional de animais no ambiente e pelo grau de encontro com outros animais. Animais que convivem com outros em ambiente único como domicílios, internatos, criadouros, e abrigos correm risco substancial. Outro fator que deve ser levado em consideração é a

introdução de novos membros ao agregado familiar, seja pelo desenvolvimento isolado do estresse e/ou conjunto com a nova ordem social (TIZARD, 2020). Assim, fatores variados têm sido demonstrados como sendo efetores da reativação do HVF-1, seja de modo espontâneo ou secundário ao estresse, ou mesmo quando da submissão a tratamento por corticosteróides, infecção concomitante, mudanças de alojamento, parto e lactação, podendo resultar em nova eliminação viral subclínica, na qual o animal não apresenta sinais clínicos, ou eliminação com sintomatologia menos grave e/ou desenvolvimento ceratite estromal crônica quando se apresenta resposta imunológica contra os antígenos virais presentes na córnea (GALLE, 2007)

## MANIFSTAÇÕES OCULARES

O HVF-1 pode desenvolver amplo espectro de doenças oculares e perioculares como a oftalmia neonatal, conjuntivite, ceratite podendo apresentar ulceração dendrítica ou ulceração geográfica da córnea ou estromal crônica, simbléfaro, sequestro da córnea, conjuntivite eosinofílica associada a ceratite, ceratoconjuntivite seca, ceratopatia de banda calcificada, dermatite periocular e uveíte anterior ocular (ANDREW, 2001; GOULD, 2011).

## OFTALMIA NEONATAL

Durante o período neonatal, é possível que o animal seja acometido por infecção pelo HVF-1 com acúmulo de secreção mucopurulenta ainda com as pálpebras fechadas. Clinicamente, o caso é grave devido ao extenso comprometimento da córnea e a possibilidade de ruptura do globo ocular. Nestes casos, o tratamento inclui a ruptura prematura da fissura palpebral e irrigação da superfície ocular. (BISTNER et al., 1971, ANDREW, 2001, GOULD, 2011)

## CONJUNTIVITE

A conjuntivite nos casos de infecção pelo HVF-1 pode se desenvolver de modo agudo ou crônico. Usualmente, está associada ao quadro de rinotraqueíte nas infecções primárias. Observam-se os sinais clínicos após 2 a 6 dias de período de incubação. Nestes casos, a conjuntivite apresenta-se bilateralmente, hiperemia local, secreção ocular serosa e grau variável de quemose ou seja, inchaço da conjuntiva que reveste as pálpebras e os olhos. A evolução do quadro clínico pode levar ao surgimento de necrose epitelial e desenvolvimento de ulceração conjuntival. Na maioria dos casos, os sinais clínicos desaparecem com 10 a 20 dias, contudo, como já expressado anteriormente, a recrudescência viral é constante nesses animais, e deste modo, pode-se observar a cronicidade em alguns casos. (GOULD, 2011)

## CERATITE

A ceratite ou queratite é uma inflamação que acomete a córnea, ou seja, a camada transparente do olho. Pode ser causada pela deficiência do filme lacrimal, lesão física ou química, bactérias, fungos, amebas, vermes e vírus, como no caso do HVF-1(ANDREW, 2001, GOULD, 2011).

### Ulceração dendrítica

Expressamos anteriormente que são variados e inespecíficos os sinais clínicos pela infecção por HVF-1, contudo, as ulcerações dendríticas são consideradas como sinal clínico patognomônico nesses casos. Assim, na evolução da infecção primária aguda em que ocorre a ulceração da córnea, é possível observar-se defeitos epiteliais lineares ou ramificados. Clinicamente, pode-se acreditar que a aparência está boa, nesses casos, o uso da fluoresceína tópica ou a coloração rosa bengala auxiliam no diagnostico, contudo, ressalta-se a necessidade de lavagem logo após a aplicação devido a irritação local (ANDREW, 2001, GOULD, 2011).

### Ulceração geográfica da córnea

Ulcerações geográficas também podem estar presentes em infecções causadas pelo HVF-1, sendo únicas ou múltiplas. É uma evolução mais frequente nos casos de recidivas (ANDREW, 2001, GOULD, 2011).

### Ceratite estromal crônica

A ceratite estromal crônica estabelece-se após múltiplas recidivas ou após longa cronicidade da lesão devido a deficiência da resposta imune aos antígenos virais. Nestes casos, visualiza-se neovascularização, infiltrado inflamatório, pigmentação, tecido cicatricial e fibrose (NASISSE. et al, 1993, 1995; ANDREW, 2001, GOULD, 2011 )

## SIMBLÉFARO

A conjuntivite grave em animais jovens e adolescentes pode desencadear à adesão da conjuntiva à própria ou à córnea nos casos de ulceração da córnea. A condição acomete a capacidade de piscar e a manutenção do filme lacrimal sobre a córnea, levando ao desenvolvimento de ceratoconjuntivite seca, conjuntivalização da córnea e cegueira do olho acometido (GOULD, 2011).

## SEQUESTRO CORNEAL

A degeneração do estroma corneal associado a descoloração marrom/preta

é determinada como sequestro corneal, sendo uma característica que apresenta predisposição racial acometendo gatos Persas e Himalaio. Nessas raças, a condição pode representar uma doença estromal primária, mas a maioria dos casos está associada à ulceração crônica da córnea ou à ceratite crônica. A utilização de corticosteróides tópico em animais infectados por HVF-1, em modelo experimental, foi determinante como causa do sequestro corneal. O sequestro corneal não é responsivo ao tratamento médico, sendo recomendada ceratectomia superficial com ou sem procedimentos de enxerto (enxerto pedicular conjuntival ou transposição córneoconjuntival) (ANDREW, 2001, STILES & TOWNSEND, 2007; GOULD, 2011).

## CONJUTIVITE EOSINOFÍLICA

A conjuntivite eosinofílica, bilateral ou unilateral, é resultado de infiltrado proliferativo superficial, irregular, apresentando coloração branca/rosa da conjuntiva ou córnea devido a vascularização. Não foi observado relação entre a conjuntivite eosinofílica com o complexo eosinofílico felino. O diagnóstico é baseado no aspecto clínico e nos achados citológicos esfoliativos, que revelam infiltrado misto de eosinófilos, plasmócitos, linfócitos, mastócitos e macrófagos. Ainda que presente nas infecções por HVF-1, a patogênese ainda permanece incerta. A condição geralmente responde aos corticosteróides tópicos sem a necessidade de medicação antiviral, o que pode argumentar contra uma causa viral primária (ANDREW, 2001, STILES & TOWNSEND, 2007; GOULD, 2011; LABELLE & LABELLE, 2023).

## CERATOCONJUNTIVITE SECA E INSTABILIDADE LACRIMAL

A ceratoconjuntivite seca estabelece-se devido a insuficiente lubrificação da superfície ocular promovida pelo filme lacrimal. Nos casos de infecção por HVF-1 pode estar presente, ainda assim, não se entende se a ação viral ocorre diretamente sobre as glândulas lacrimais desenvolvendo a sintomatologia, ou se a mesma é consequência da oclusão dos ductos lacrimais secundários a inflamação. Adicionalmente, em análise histopatológica, observa-se que as células caliciformes da conjuntiva apresentam menor densidade nas infecções por HVF-1 além de apresentar redução no tempo de ruptura do filme lacrimal, assim, a qualidade do filme lacrimal torna-se deficiente, fato que se associa ao desenvolvimento da ceratoconjuntivite seca (ANDREW, 2001, STILES & TOWNSEND, 2007; GOULD, 2011).

## DERMATITE PERIOCULAR

Na pele periocular de animais acometidos pelo HVF-1 pode ser identificado lesões ulcerativas contendo o DNA viral e corpos de inclusão intranucleares. Clinicamente, as lesões consistem em vesículas, crostas e úlceras e a condição pode ser grave em sua

apresentação (GOULD, 2011)

## REFERÊNCIAS


BURGESSER K.M., HOTALING S., SCHIEBEL A., ASHBAUGH S.E., ROBERTS S.M., COLLINS J.K. Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,** n. 11, p. 122 e126, 1999.

CAI, Y., FUKUSHI, H., KOYASY, S., KURODA, E., YAMAGUCHI, T., HIRAI, K. An etiological investigation of domestic cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease in Japan. **Journal of Veterinary Medicine Science**, n. 64, p. 215-219, 2002.

GALLE, L.E., MOORE, C.P. Clinical microbiology. In: *Gelatt K.N., Veterinary ophthalmology*. 4ª ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007: 236–70.

GASKELL, R.M., DAWSON, S. (1998) In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (2nd edn). Greene CE (ed.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 97–106.

GASKELL, R.; DAWSON, S.; RADFORD, A.; THIRY, E. Feline herpesvirus. **Veterinary Research**, n. 38, p. 337-354, 2007.

GASKELL, R.M., POVEY, R.C. Feline viral rhinotracheitis: sites of virus replication and persistence in acutely and persistently infected cats. **Research of Veterinary Science**, n. 27**:** 167–74, 1979.

GOULD D. FELINE HERPESVIRUS-1: OCULAR MANIFESTATIONS, DIAGNOSIS AND TREATMENT OPTIONS. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, n. 13(5), p. 333-346, 2011.

LABELLE, A., LABELLE, P. Eosinophilic keratoconjunctivitis in cats. **Veterinary Clinical Small Animal**, n. 53, p. 353–365, 2023

MAES, R. Felid herpes virus type 1 infection in cats: a natural host model for alphaherpesvirus pathogenesis. **International Scholarly Research Network**, n. 14; 2012.

MAGGS, D.J., LAPPIN, M.R., REIF, J.S. et al. Evaluation of serologic and viral detection methods for diagnosing feline herpes-virus-1 infection in cats with acute respiratory tract or chronic ocular disease. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, n. 214, p. 502–7, 1999.

MARINO E. M., MIRONOVICH, M. A., INECK, N.E.; CITINO, S. B., EMERSON, J.A., MAGGS, D.J., COGHILL, L .M., DUBOVI, E. J., TURNER, R. C., CARTER, R. T., LEWIN, A. C. Full viral genome sequencing and phylogenomic analysis of feline herpesvirus type 1 (FHV-1) in cheetahs (Acinonyx jubatus). **Viruses**, n. 13, p. 2307, 2021.

MUNSON, L., MARKER, L., DUBOVI, E., SPENCER, J.A., EVERMANN, J.F. O'BRIEN, S.J. Serosurvey of viral infections in free-ranging Namigian cheetahs (Acinonyx jubatus). **Journal Wildlife Disease**, n. 40, p. 23-31, 2004.

NASISSE, M.P., GUY, J.S., STEVENS, J.B., ENGLISH, R.V., DAVIDSON, M.G. Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983–1991). **Journal of American Veterinary Medicine Association**, n. 203, p. 834–37, 1993.

NASISSE, M.P., ENGLISH, R.V., TOMPKINS, M.B., GUY, J.S., SUSSMAN, W. Immunologic, histologic, and virologic features of herpesvirus-induced stromal keratitis in cats. **American Journal of Veterinary Research**, n. 56, p. 51–55, 1995.

NASISSE, M. P., GLOVER, T.L., MOORE, C.P., WEIGLER, B. J. Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration. **American Journal of Veterinary Research,** n. 59, p. 856-858, 1998.

STILES, J., McDERMOTT, M., BIGSBY, D., WILLIS, M., MARTIN, C., ROBERTS, W., GREENE, C. Use of nested polymerase chain reaction to identify feline herpesvirus in ocular tissue from clinically normal cats and cats with corneal sequestra or conjunctivitis. **American Journal of Veterinary Research**, n. 58, p. 338-342, 1997(a).

STILES, J., McDERMOTT, M., WILLIS, M., ROBERTS, W., GREENE, C. Comparison of nested polymerase chain reaction, virus isolation, and fluorescent antibody testing for identifying feline herpesvirus in cats with conjunctivitis. **American Journal of Veterinary Research,** n. 58, p. 804-807,1997(b)

STILES J, POGRANICHNIY R. Detection of virulent feline herpesvirus-1 in the corneas of clinically normal cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, n. 10(2), p.154-159, 2008.

STILES, J., TOWNSEND, W.M. Feline ophthalmology. In: Gelatt KN, ed. Veterinary ophthalmology, 4th edn. Iowa: Blackwell Publishing, 2007: 1095–164.

TIZARD, I.R. Feline vaccines. Vaccines for Veterinarians. 2021:167–178. e1. doi: 10.1016/B978-0-323-68299-2.00023-X. Epub 2020 Jul 10. PMCID: PMC7348621.

TOWNSEND, W.M., JACOBI, S., TAI, SH. et al. Ocular and neural distribuition of feline herpesvirus-1 during active and latent experimental infection in cats. **BMC Veterinary Research,** n.9, p. 185 2013.

QIAOXING, W., HONGCHAO, W. SHUNFU, H., YUXIU, L., YALEI, C. XINZHANG, G., YIFAN, W., XUELIN, J., YIPENG, J., KEGONG, T. Feline herpesvirus infection and pathology in captive snow leopard. **Scientific Reports**, n. 12: 4989, 2022

YAO L., Berríos-Vázquez, G., MAES, R. K., KIUPEL, M., Desmarets, L. M. B., Nauwynck, H. J., Hussey, G. S. Development of immortalized feline respiratory epithelial cells in an air-liquid-interface culture system for feline herpesvirus-1 study, **Virus Research**, Volume 326, 2023, 199063, ISSN 0168-1702.

ZICOLA A., SAEGERMAN, C., QUATPERS, D., VIANDIER, J., THIRY, E. Feline herpesvirus 1 and feline calicivirus infections in a heterogenous cat population of a rescue shelter. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. n. 11;1023-7, 2009.

# CAPÍTULO 14

# MICROBIOLOGIA DO SOLO: MICRORGANISMOS EM FOCO

*Data de submissão:14/01/2024* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Sánara Adrielle França Melo**
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Petrolina – Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-3337-3597

**Élice Brunelle Lessa dos Santos**
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Petrolina – Pernambuco
https://orcid.org/0000-0003-2632-1040

**Eduardo Michelon do Nascimento**
Universidade Federal da Bahia
Salvador – Bahia
https://orcid.org/0000-0002-8138-2295

**Félix Barbosa Reis**
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Petrolina – Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-9993-529X

**Jarlyanne Nargylla Costa Sousa**
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Petrolina – Pernambuco
https://orcid.org/0000-0001-6746-2056

**Diana Valadares Pessoa**
Universidade Estadual do Maranhão
São Bento – Maranhão
http://lattes.cnpq.br/0579416972100740

**Fabiana Castro Alves**
Universidade Estadual do Maranhão
São Bento – Maranhão
https://orcid.org/0000-0002-4463-2582

**João Soares Gomes Filho**
Universidade Estadual do Maranhão
São Luis – Maranhão
https://orcid.org/0000-0003-3371-3368

**Steyce das Neves Barbosa**
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Petrolina – Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-1806-4358

**RESUMO**: O solo é um ambiente dinâmico e complexo, sendo o habitat de uma grande diversidade de macro e microrganismos. A descontinuidade e variabilidade no tamanho das partículas, dos agregados do solo, possibilitam que ele seja composto por inúmeras pequenas comunidades invisíveis a olho nu. Os microrganismos atuam na manutenção da fertilidade do solo através da ciclagem de nutrientes influenciando sua disponibilidade, melhorando a estrutura do solo, apoiando o crescimento saudável das plantas e degradando poluentes orgânicos. Com isso, essa revisão de literatura

foi elaborada com o objetivo de fazer um levantamento bibliográfico sobre a Biologia do Solo, focando as questões microbiológicas relacionadas à qualidade do solo e produção de forragens.
**PALAVRAS-CHAVE**: Biodiversidade; Produção Vegetal; Reciclagem de Nutrientes

## SOIL MICROBIOLOGY: MICROORGANISMS IN FOCUS

**ABSTRACT:** Soil is a dynamic and complex environment and is home to a great diversity of macro- and micro-organisms. The discontinuity and variability in the size of soil particles and aggregates make it possible for it to be made up of countless small communities invisible to the naked eye. Microorganisms work to maintain soil fertility by cycling nutrients, influencing their availability, improving soil structure, supporting healthy plant growth, and degrading organic pollutants. This literature review was prepared with the aim of carrying out a bibliographical survey on soil biology, focusing on microbiological issues related to soil quality and forage production.
**KEYWORDS:** Biodiversity; Nutrient Recycling; Plant Production

## 1 I INTRODUÇÃO

O solo é considerado um dos mais importantes reservatórios de biodiversidade do planeta terra, devido à numerosa e diversa quantidade de organismos vivos que habitam esse ambiente. Estes organismos são classificados em grupos conforme suas características e atuação, que por sua vez são influenciadas pelas práticas agropecuárias (CERETTA e AITA, 2008).

O impacto ambiental das práticas agropecuárias tem ocasionado alterações nas características e na qualidade do solo, causando perdas de ordem financeiras, pelo acréscimo dos custos de produção e pela redução ou prejuízo da competência produtiva. Dados da FAO (2015), mostram que 33% dos solos do mundo encontram-se em processo de degradação.

No Brasil, estima-se que 50% das áreas de pastagens estejam degradadas, o que implica a entender-se que a vida microbiológica do solo esteja em déficit, e assim este se torna incapazes de sustentar as exigências para a produtividade animal (VILELA et al., 2017).

Ainda que se saiba que a demanda de alimentos ocasionada pelo crescimento populacional tenha potencializado o manejo intensivo do solo a partir do uso de pesticidas, fertilizantes e emprego de monoculturas, atualmente, o interesse em reduzir a degradação e manter a qualidade do solo, é estimulado pela consciência renovada de que o solo é vital para a produção de alimentos, para sustentar a produtividade vegetal e animal, manter ou melhorar a água e a qualidade do ar (VEZZANI; MIELNICZUK, 2009).

Assim, a recuperação das áreas degradadas, principalmente as de pastagem, deve ser realizada para se manter a produção no patamar desejado, e, sobretudo, garantir a

vida do solo. Nessa perspectiva, está revisão tem por objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre a Biologia do solo, focando as questões microbiológicas relacionadas à qualidade do solo e produção de forragens.

## 2 I SOLO

O solo é um ambiente “vivo”, dinâmico e complexo. É um dos principais compartimentos da biosfera em termos de reservatório biológico, além de funcionar como um importante reservatório de água, suporte essencial do sistema agrícola e atividades humanas. Além disso, serve como habitat de uma grande diversidade de microrganismos e macrorganismos que atuam na transformação e decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e no fluxo de energia no solo (COTTA, 2016).

Ele encontra-se estruturado de maneira heterogênea e descontínua. Possui agregados formados por diferentes proporções de areia, argila e silte, que funcionam como um suporte físico para a aderência microbiana e proporcionam condições diferenciadas de aeração e disponibilidade de nutrientes que possibilitam a coexistência de milhares de microrganismos, com diferenciadas habilidades metabólicas, nessas regiões (DUCHIELA et al., 2013).

A diversidade microbiana dos diferentes tipos de solo é também bastante extensa que esta diretamente relacionada com um conjunto de fatores: abióticos (atmosfera, temperatura, água, pH, potencial redox, fontes nutricionais, entre outros) e bióticos (genética microbiana, a interação entre os microrganismos, entre outros) que permitem o desenvolvimento microbiano e a estruturação da comunidade viva dos solos (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007).

Na agricultura, de maneira geral, a vida do solo tem uma influência direta nas características físicas, químicas e biológicas do solo, estando diretamente ligada à produtividade e qualidade das colheitas.

## 3 I MICRORGANISMOS DO SOLO

A microbiologia constitui um dos cinco fatores que interagem na formação do solo, em conjunto com o clima, topografia, material parental e tempo. Portanto, é um dos elementos essenciais que ajudam ativamente na melhoria e manutenção da qualidade do solo para permitir o desenvolvimento dos mais diversos tipos de culturas (SILVA et al., 2006).

A relação entre a diversidade de animais e os processos que ocorrem no solo permite identificar grupos funcionais da fauna edáfica mais sensíveis ao sistema. Os microrganismos se enquadram nesses critérios, sendo responsáveis por serviços ambientais de importância fundamental, tais como os processos de formação do solo, decomposição de resíduos orgânicos (animais e vegetais), ciclagem de nutrientes e formação da matéria orgânica, biorremediação de poluentes e agrotóxicos, entre outros (MENDES et al., 2010).

Estes microrganismos estão localizados na rizosfera, onde realizam transformações bioquímicas da matéria orgânica, promovendo ou inibindo o crescimento das plantas (ALEXANDER, 1977). É importante ressaltar, que os microrganismos não existem isoladamente, eles interagem e essas interações influenciam a fertilidade do solo e consequentemente na produtividade das culturas. Quando o solo é pobre em microrganismos ocorre perda nos teores de matéria orgânica, o que representa problemas para o sistema agrícola (CHAER et. al, 2014).

Apresentam-se no solo de maneira diversa e numerosa, e em função do seu tamanho podem ser classificados como macrorganismos e microrganismos. Os microrganismos são as bactérias, actnomicetos, fungos e algas. Já o grupo de macrorganismos inclui as minhocas, cupins e nematoides (CERETTA e AITA, 2008).

## 3.1 Bactérias

As bactérias são os organismos em maior número no solo ($10^6$-$10^9$ nº/g) embora sua biomassa represente apenas de 25-30 % da biomassa microbiana total dos solos agrícolas (MARTINS, 2021).

As bactérias melhor representadas no solo são as diferentes espécies do gênero: *Pseudomonas, Bacillus, Arthrobacter, Achromobacter, Xanthomonas* e *MIcrococcus*. Estas são responsáveis por processos bioquímicos de grande interesse para o sistema solo-planta (transformações de nutrientes minerais no solo). Além desses, representantes dos gêneros *Rhizobium, Azospirillum, Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*, que são fixadores de nitrogênio em simbiose com leguminosas e/ou gramíneas são bastante utilizados (MARTINS, 2021).

## 3.2 Actinomicetos

Os actinomicetos do solo, apesar de pertencerem ao mesmo grupo taxonômico das bactérias, exercem funções que, com exceção de certas características próprias, se assemelham muito às desempenhadas pelos fungos (GALLI, 1964). A sua presença no solo é detectada pela produção de substâncias voláteis com cheiro rançoso característico, que emanam de solos recém arados e são denominadas “geosmin” (MARTINS, 2021).

O gênero *Sheptomyces* é o mais representativo (70-90 % dos actinomicetos do solo), seguidos pelos gêneros *Nocardia, Actinomyces, Micromonospora* e *Frankia*.

Todos os organismos deste grupo são capazes de decompor matéria orgânica em temperaturas mais altas, como na adubação verde, compostagem e esterqueiras, e de degradarem celulose e proteínas com pequena imobilização de nitrogênio. Além disso, esse grupo é capaz de produzir antibióticos que proporcionam uma proteção contra bactérias e fungos patogênicos. Alguns deles, como representantes do gênero *Frankia* formam nódulos e fixam nitrogênio em simbiose com plantas (MARTINS, 2021).

### 3.3 Fungos

Embora não sejam os microrganismos em maior abundância no solo ($10^3$-$10^6$/g solo) os fungos representam de 70-80 % da biomassa microbiana do solo, principalmente nos solos ácidos, ricos em matéria orgânica e umidade próxima a capacidade de campo (MARTINS, 2021).

Dentre as funções dos fungos no solo, uma das principais é a sua capacidade da formação de relações simbióticas mutualista denominadas micorrízicas. Essa simbiose proporciona para a planta elementos essenciais para a sua sobrevivência e desenvolvimento (CERETTA e AITA, 2008).

Os fungos mais representativos do solo são espécies dos gêneros: *Aspergillus, Penicillium, Rhizoctonia, Humicola, Alternaria, Phytium, Fusarium* e *Rhizopus* (MARTINS, 2021).

### 3.4 Algas

As algas representam um grupo de organismo no solo bastante heterogêneo tanto do ponto de vista morfológico como fisiológico. Elas são consideradas organismos incorporadores de matéria orgânica aos solos, pois convertem $H_2O$+nutriente+luz, em biomassa, sendo assim, considerados os mais fotossintetizantes deste meio. Além disso, apresentam a capacidade de fixarem $N_2$ atmosférico, em simbiose com plantas ou em vida livre (MARTINS, 2021).

Os principais tipos no solo são representados pelas divisões: Clorophycofita (algas verdes); Chrysophycofita (diatomáceas e algas verdes-amareladas); Euglenophycofita (euglenóides-unicelulares móveis) e, Rhodophycofita (algas avermelhadas) (MARTINS, 2021). Porém, devido a sua capacidade de sintetizar as substâncias orgânicas que necessitam, através do uso da energia solar, elas independem da matéria orgânica do solo e, por isso, e como consequência, não exercem nenhum papel de maior importância na microbiologia do solo (CERETTA e AITA, 2008).

## 4 I OUTROS MICRORGANISMOS DO SOLO

Além das bactérias, actinomicetos, fungos e algas, podemos encontrar em atividade nos solos outros microrganismos como os vírus e os protozoários.

### 4.1 Vírus

Os vírus são moléculas de DNA ou RNA cobertos pelo capsídeo (subunidade proteica - o capsômeros que são responsáveis pela especificidade viral) e não são considerados organismos no senso estrito, pois não tem a capacidade de autorreprodução ou crescimento. Entretanto, mesmo tendo seu papel ainda pouco explorado nesse ambiente, os vírus do

solo são conhecidos por serem abundantes, morfologicamente diversos e abranger uma ampla gama de tamanhos de genoma (PRINGENT et al., 2005; WILIAMSON et al., 2005), os vírus são microrganismo promissores para uso em controle biológico de ervas daninhas e insetos.

Segundo Wigington et al., (2016) os vírus, especialmente aqueles que infectam bactérias e arquéias, são bastante abundantes quando comparados aos hospedeiros concorrentes e desempenham um importante papel na formação da diversidade genética bacteriana, estrutura da comunidade e função.

Conforme relatado no estudo de Williamson et al. (2017), a abundância viral nos solos pode variar de abaixo dos limites de detecção em desertos quentes a mais de 1 bilhão por grama em áreas consideradas com alto teor de umidade. Segundo os autores, a diversidade viral do solo é altamente subestimada e subamostrada, embora as medidas atuais de riqueza viral sejam maiores para solos do que para ecossistemas aquáticos.

Na tabela 01 a seguir, adaptada de Zablocki, Adriaenssens & Cowan et al. (2015), encontram-se alguns estudos realizados para identificação de carga viral em diversos tipos de solo.

| Autores, ano de publicação | Tipo (s) de solo | Localização (ões) de coleta de amostra | Método (s) usado (s) [a] |
|---|---|---|---|
| Pearce et al. (2012) | Solo superficial | Ilha Alexandre, Antártica | Pirosequenciamento de metagenoma Shotgun |
| Prestel et al. (2013) | Superfície de areia de duna | Deserto de Mojave, EUA | EM, amplificação aleatória para DNA viral (Sanger) |
| Srinivasiah et al. (2013) | Solo superficial (Antártica); solo argiloso (EUA) | Antártica (lagoa do Tom e do Obelisco); Delaware, EUA | Impressão digital da comunidade viral RAPD |
| Srinivasiah et al. (2015) | Solo argiloso | Delaware, EUA | Microcosmos, impressão digital da comunidade viral RAPD, contagem de epifluorescência |
| Adriaenssens et al. (2015) | Rochas associadas ao solo | Deserto do Namibe | Sequenciamento de metagenoma viral Shotgun (Illumina) |

[a] EM, microscopia eletrônica; PFGE, eletroforese em gel de campo de pulso; LASL, biblioteca shotgun amplificada por linker; RAPD, DNA polimórfico amplificado aleatoriamente.

Tabela 1. Estudos baseados em solo de rendimento médio a alto relativos à ecologia viral desde 2012

Adaptado de Zablocki , Adriaenssens & Cowan et al. (2016)

## 4.2 Protozoários

Os protozoários constituem a forma mais simples da vida animal, são um importante elo na chamada Cadeia Alimentícia do Solo. Ocorrem no solo como saprozóicos (que vivem as custas de restos orgânicos depositados no solo) e com maior frequência como holozóicos (que ingerem células bacterianas vivas, predadores), sendo algumas espécies

fotossintetizantes.

A densidade de protozoários no solo, vai variar em função da fertilidade de $10^4$ $g^{-1}$ a $10^5$ $g^{-1}$ de solo (BRANDÃO, 1993), com biomassa de 15 a 150 kg $ha^{-1}$ (SIQUEIRA, 1988), e localizar-se nos espaços interagregados (JASTROW; MILLER, 1991). Os três principais grupos de protozoários são os flagelados, os ciliados e as amebas, sendo os dois primeiros.

A principal fonte de alimento dos protozoários são bactérias, actinomicetos e fungos (dependendo do tamanho), e segundo Garcia (2003), a quantidade de bactérias e actinomicetos, que são o alimento preferencial dos protozoários, em um hectare pode ser de até 5 toneladas por hectare. O aumento da biomassa bacteriana, por exemplo, faz com que o número de protozoários bacteriófagos e de nematoides aumente em até 40x em relação ao solo adjacente à rizosfera (GRIFFITHS, 1990).

Os estudos sobre os protozoários no solo, se iniciaram a partir da hipótese de Russell & Hutchinson (1909), que diziam que a presença de protozoários no solo o tornava menos fértil, o que acabava por reduzir o número de bactérias. Essa hipótese foi refutada posteriormente por estudos que mostravam que a presença de protozoários acaba por estimular a atividade bacteriana, sendo importante ressaltar ainda que aproximadamente 70% da respiração total dos microrganismos do solo pode ser atribuída aos protozoários (SOHLENIUS, 1980; FOISSNER, 1987).

Ao se alimentarem de bactérias, algas e pequenos fungos, os protozoários passam a ser de extrema importância na regulação do número desses grupos de organismos, mantendo o equilíbrio biológico do solo. Com isso, quando o solo tem ausência de protozoários, pode haver explosão da quantidade de bactérias e esse aspecto poderá comprometer a reciclagem de nitrogênio.

Utilizando isótopos radioativos, o estudo realizado por Crotty et al., (2012) avaliou o papel dos protozoários do solo na mineralização da biomassa microbiana, e consequentemente na ciclagem do carbono e nitrogênio, em pastos e bosques com o mesmo tipo de solo. Observaram que calembolas, minhocas, nematoides e larvas de insetos tiveram uma maior quantidade de nitrogênio e de carbono, seja por consumir diretamente os protozoários ou por absorção da biomassa.

## 5 I MICROBIOLOGIA DO SOLO EM SISTEMAS INTEGRADOS

A utilização de sistemas integrados de produção se apresenta como uma das opções para garantir melhorias na produção de grãos, carne e madeira com sustentabilidade e conservação desses recursos. Nos sistemas de produção agrícola, os atributos microbianos do solo, como a diversidade de microrganismos, atividade enzimática, taxa de respiração e biomassa microbiana, são considerados indicadores sensíveis que podem ser utilizados no monitoramento de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola (EPELDE et al., 2014; FERREIRA et al., 2010; FERREIRA; WENDLAND; DIDONET, 2011).

Visto que os microrganismos são parte integrante da funcionalidade dos ecossistemas, é importante se monitorar por longo prazo os sistemas integrados de produção, a fim de entender melhor aspectos de microbiologia de solos como: interação microrganismos x sistemas de produção; interação microrganismos x microrganismos; e interação microrganismos x plantas cultivadas nos sistemas.

Estudo realizado por Ferreira, Stone & Martin-Didonet (2017), sobre a População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção, avaliaram o efeito de sistemas de manejo do solo e época de amostragem nos atributos microbianos do solo cultivado com arroz em sistema agroecológico de produção. Observaram que os sistemas de cultivo provocam alterações nos atributos microbiológicos do solo quando comparados com a condição preservada do ambiente de mata e que o número de microrganismos cultiváveis avaliados era pouco impactado pelos sistemas de manejo do solo; contudo, menor número de microrganismos foi observado em solo de mata.

Os sistemas integrados podem ter diferentes configurações produtivas no campo, sendo que nos últimos anos tem se adotado cada vez mais a integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF). No caso do ILPF, destaca-se como benefícios obtidos no decorrer dos anos (MEDRADO, 2000):

- Melhoria das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo;
- Aumento da eficiência do uso de insumos; Redução dos custos das atividades agrícola, pecuária e florestal;
- Produção ecologicamente correta de madeira;
- Redução da dependência do uso de áreas marginais para produção agropecuária.

## 5.1 Nematoides como biodicadores em sistemas de produção

Os nematoides constituem um diverso grupo dos invertebrados, abundantes como parasitas ou na forma de vida livre no solo, em ambientes aquáticos ou marinhos. Diversas formas são utilizadas para avaliar o desempenho do estabelecimento de novos sistemas, como por exemplo, indicadores químicos, físicos e biológicos.

Os nematoides atuam como bons bioindicadores na avaliação de qualidade do solo e alterações ambientais (NEHER, 2001; GOULART, 2003; NEILSON, 2005; CARES, 2006; TOMAZINI, 2008), principalmente por:

- Ocorrer em qualquer ambiente que forneça uma fonte de carbono orgânico;
- Ocorrer em qualquer tipo de solo e condições climáticas;
- Constituir comunidade multiespecífica;
- Certos táxons podem apresentar sensibilidade diferenciada a distúrbios ocorri-

dos no meio;

- Apresentar diversidade trófica de fácil identificação por análise morfológica.

Segundo Whitford et al. (1982), uma das maiores importâncias em utilizar nematoides como indicadores da qualidade do solo e alteração ambiental encontram-se no seu papel regulatório na velocidade das transformações, como por exemplo, as transformações da matéria orgânica.

Os nematoides possuem variadas formas de adaptação a mudanças que ocorrem no ambiente causadas por diversos fatores, entre os quais o manejo realizado nos cultivos, a época de plantio, o estresse climático, a fisiologia das plantas e o melhoramento genético (BLAKELY et al., 2002).

Índices ecológicos têm sido desenvolvidos para considerar a comunidade de nematoides como um indicador em ecossistemas aquáticos e terrestres como o índice maturidade (IM) e o índice de parasitas de plantas (IPP) (BONGERS, 1990; BONGERS et al., 1991). Da mesma forma são utilizados índices que diagnosticam a cadeia alimentar do solo, como o índice de enriquecimento (IE), índice de estrutura (IS) e índice canal (IC) (FERRIS et al., 2001). Essas análises acabam por oferecer informações complementares que quando usados em combinação revelam informações descritivas e quantitativas da comunidade de nematoide do solo e as condições dos sistemas naturais e/ou agrícolas.

## 6 I MICROBIOLOGIA DO SOLO ASSOCIADA À PRODUÇÃO DE FORRAGEM

O uso de microrganismos com a finalidade de melhorar a disponibilidade de nutrientes às plantas é uma prática de grande importância e muito necessária para a agricultura. Entre os sistemas biológicos envolvendo planta e microrganismos temos os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que é considerada importante para o processo de nodulação (CRUZ et al. 2017). Segundo Tavares (2016), a dupla inoculação é capaz de reduzir os custos com fertilizantes nitrogenados e fosfatados, além de conferir às plantas maior capacidade de absorção de nutrientes, induzindo ao aumento de produtividade.

A ação dos microrganismos, especialmente os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), em solos de baixa a média fertilidade possibilita maior eficiência no transporte e absorção do fósforo, aumentado à disponibilidade deste nutriente às plantas. Desta forma, a inoculação de leguminosas com FMAs selecionados pode contribuir para acelerar o seu estabelecimento no campo, pois aumentam sua capacidade de absorção de nutrientes e água do solo, melhorando o seu estado nutricional e tornando-as mais resistentes ao período seco. Como consequência, as taxas de crescimento são aumentadas e as plantas podem ser mais competitivas no campo (MIRANDA, 2008)

Segundo MIRANDA (2008), o amendoim forrageiro é uma leguminosa promíscua, capaz de nodular e fixar nitrogênio em simbiose com grande variedade de bactérias do gênero *Rhizobium* e com diversas espécies de FMAs, proporcionando muitos benefícios

ao meio ambiente e ao sistema de produção. Para Azevedo (2010), cada planta apresenta peculiaridades quando em associação com FMAs, o que vai depender da espécie de FMA inoculada, do funcionamento e eficiência da simbiose, considerando as diferentes combinações de espécies de fungos com a planta hospedeira.

Os fungos micorrízicos melhoram a adaptação de plantas em simbiose, realizando o aumento à resistência de raízes contra patógenos e capacidade de captação de água. Esses fungos podem influenciar no crescimento vegetal, ajudando no seu estabelecimento em áreas com solos pobres ou em condições de estresse hídrico, aumentando a absorção de água e de nutrientes pelas plantas, principalmente elementos minerais de pouca solubilização (RODRIGUES, 2008). Outros fatores da planta como idade, estado nutricional, presença de compostos fungistáticos, desfolha, pastejo, poda e aplicação de fitohormônios também influenciam a micorrização. Por outro lado, a colonização das raízes e produção de esporos de FMA é afetada por diversos fatores, entre os quais a aplicação de fertilizantes, a intensidade de luz e desfoliação, que reduzem a fotossíntese e, consequentemente, o suprimento de carbono (CAVALCANTE et al., 2009).

Pesquisas revelam que a presença de fungos micorrízicos no sistema radicular das plantas aumentam a absorção de nutrientes do solo em especial os elementos minerais pouco móveis no solo, exemplo fósforo (AZEVEDO, 2010) e promovem também a maior nodulação e consequentemente a maior fixação de nitrogênio (PIZZANI, 2008).

## 7 | FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS E GRAMÍNEAS

Em plantas, as elevadas exigências de N o tornam um dos fatores mais limitantes para os sistemas agrícolas e naturais (PEÑUELAS et al., 2013), sendo as principais fontes de fornecimento: 1) o solo, principalmente pela decomposição/mineralização da matéria orgânica; 2) fixação não biológica, resultante de processos naturais; 3) fertilizantes nitrogenados e 4) fixação biológica do N atmosférico (N2) (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

No que se refere ao N do solo, o estoque contido na matéria orgânica é finito, passível de exaurimento, após cultivos sucessivos. As condições climáticas predominantes nos trópicos intensificam a decomposição da matéria orgânica, bem como as perdas, e resultam em baixos teores do elemento (MAIA et al., 2008).

Em áreas degradadas ou fortemente alteradas pela ação antrópica, onde o teor de matéria orgânica do solo já é muito baixo (SOARES, 2007), o crescimento das plantas é induzido pela adição de grandes quantidades de adubos orgânicos, fertilizantes nitrogenados ou pelo processo natural da FBN, que constitui na quebra da ligação tripla do N2 atmosférico. No entanto, apenas uma parcela relativamente pequena de espécies de procariotos possui a enzima nitrogenase que é capaz de reduzir o N2 em N biologicamente disponível. Estes organismos são chamados de fixadores de N2 ou diazotróficos e são eles

os mediadores do processo de FBN, que na sua maioria, envolve as formas de simbiose microrganismo-planta vascular (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A simbiose rizóbio-leguminosa forma nódulos radiculares, que são estruturas nas raízes habitadas por microrganismos específicos como as bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhyzobium* e os actinomicetos do gênero *Frankia*, que fixam o N2 atmosférico. Esse N reativo entra nos processos do ciclo de N através das plantas, animais, microrganismos, solos, soluções e sedimentos. Nessa relação o microrganismo (rizóbio) utiliza a planta (leguminosa) como fonte de carbono, enquanto libera o N fixado que será convertido em N orgânico e utilizado pela planta ou liberado como N inorgânico reduzido (NH4+) (POOLE; ALLAWAY, 2000; LODWIG et al., 2003; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As entradas de nitrogênio no ecossistema pastagem se dão geralmente por adubação nitrogenada e pela introdução de leguminosas forrageiras (ANDRADE, VALENTIM e CARNEIRO, 2002). A adubação mineral permitiu ganhos na biomassa seca da pastagem e no número de perfilhos (BRAZ, URQUIAGA, et al., 2004), entretanto tem sido pouco utilizada devido à baixa eficiência dos adubos nitrogenados e custo elevado.

A consorciação de gramíneas com leguminosas, além de servir como aporte de N, confere vários benefícios tais como: aumento da oferta de forragem em algumas épocas do ano; melhoria da qualidade nutricional das forragens; aumento da produtividade animal; aumento da diversidade da pastagem; recuperação das áreas degradadas; redução da pressão ambiental por fertilizantes químicos e a tolerância ao sombreamento (CARVALHO e PIRES, 2008) e tem sido citada por muitos autores como uma alternativa econômica para a melhoria das pastagens (PACIULLO, AROEIRA, et al., 2003; CARVALHO e PIRES, 2008; DU, TIAN, et al., 2009).

O sucesso da inserção dessas leguminosas depende, principalmente, do estabelecimento de uma simbiose eficiente com os micro-organismos diazotróficos nativos. A eficiência simbiótica pode ser restringida por diversas condições relacionadas à planta, aos micros simbionte e às condições edafoclimáticas (SILVA, 2017).

Para o sucesso da pastagem que utilize o consórcio de leguminosa com gramíneas é de suma importância a escolha da leguminosa que se adapte às condições edafoclimáticas e pressão de pastejo, e ainda que apresente alta capacidade de reprodução, alta eficiência com o simbionte que fixa o nitrogênio e boa competição com a gramínea que será cultivada em conjunto (CARVALHO e PIRES, 2008).

## 8 I CONCLUSÃO

A pecuária e a produção agrícola exercem um papel importante para a economia brasileira. Por isso, faz-se necessário a utilização consciente dos solos dentro do limite dos ecossistemas naturais, sendo estes gerenciados de modo a sustentar a produtividade vegetal e animal, manter ou melhorar a água e qualidade do ar, a fim de promover a saúde

vegetal e animal.

Assim, conhecer a diversidade de microrganismos existentes no solo, suas funções, interações, vantagens e a relação com as leguminosas e gramíneas é fundamental para que se tenha uma melhor eficiência e capacidade de produção de pastagens.

## REFERÊNCIAS

ADRIAENSSENS, E. M.; VAN ZYL, L.; DE MAAYER, P.; RUBAGOTTI, E.; RYBICKI, E.; TUFFIN, M.; COWAN, D. A. Metagenomic analysis of the viral community in Namib Desert hypoliths. **Environmental Microbiology**, v. 17, n. 2, p. 480–495, 2014;

ALEXANDER, Martin. **Introduction to soil microbiology**. 2. ed. New York: Wiley, 472 p., 1977.

ANDRADE, C. M. S.; VALENTIM, J. F.; CARNEIRO, J. C. Árvores de baginha (*Stryphnodendron guianense* (Aubl.) Benth.) em ecossistemas de pastagens cultivadas na Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 574-582, 2002.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, p. 66–75, 2007.

AZEVEDO, José Marlo de Araújo. **Variabilidade genética entre acessos de Amendoim Forrageiro quanto à associação micorrízica e resposta ao fósforo**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós- Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2010.

BLAKELY, J.K.; NEHER, D. A.; SPONGBERG, A. L. Soil invertebrate and microbial communities, and decomposition as indicators of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination. **Applied Soil Ecology**, v. 21, n. 1, p. 71-88, 2002.

BONGERS T.; ALKEMADE, R.; YEATES G. W. Interpretation of disturbance-induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. **Marine Ecology Progress Series**, v. 76, n. 2, p. 135-142, 1991.

BONGERS, T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. **Oecologia**, v. 83, n. 1, p. 14-19, 1990.

BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiota do solo. *In*: CARDOSO, E. J.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992, p. 1-16.

BRAZ, S. P.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. **Degradação de pastagens, matéria orgânica do solo e a recuperação do potencial produtivo em sistemas de baixo "input" tecnológico na região dos cerrados**. Circular Técnica, Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2004.

CARES, J. E. Nematóides como indicadores ambientais de solo. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 26., 2006, Campos dos Goytacazes. **Anais** [...]. Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2006.

CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V. Leguminosas tropicais herbáceas em associação com pastagens. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, p. 103-113, 2008.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B.T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 5, p. 180-208, 2008.

CERETTA, C. A.; AITA, C. **Curso de Agricultura Familiar e Sustentabilidade**: Biologia do Solo – 2º semestre. Santa Maria: [Universidade Federal de Santa Maria], 2008. [180] p.

CHAER, G. M.; GAIAD, S.; SANTOS, A. B.; GROCHOSKI, R. CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO SOLO. *In*: PRADO, R. B.; FIDALGO, E. C. C.; BONNET, A. **Monitoramento da revegetação do COMPERJ**: etapa inicial. Brasília: Embrapa, 2014. p. 159-173.

COTTA, S. R. O solo como ambiente para vida microbiana. *In*: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ. 221 p., 2016. p. 23-36.

CROTTY, F. V.; ADL, S. M.; BLACKSHAW, R. P. e MURRAY, P; J. Protozoan Pulses Unveil Their Pivotal Position Within the Soil Food Web. **Microbial Ecology**, v. 63, n. 4, p. 905-918, 2012.

CRUZ, E. C.; SOBREIRA, A. C.; BARROS, D. L.; GOMIDE, P. H. O. Doses de fósforo e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e produção do feijão-caupi em Roraima. **Boletim do Museu Integrado de Roraima**, v. 11, n. 1, p. 21– 28, 2017.

DU, Y. M.; TIAN, J.; LIAO, H.; BAI, C. J.; YAN, X. L.; LIU, G. D. Aluminum tolerance and phosphorus efficiency helps Stylosanthes better adapta to low-P acid soils. **Annals of Botany**, v. 103, n. 8, p. 1239-1247, 2009.

DUCHICELA, J.; SULLIVAN, T. S.; ELIANA, B.; BEVER J. D. Soil aggregate stability increase is strongly related to fungal community succession along an abandoned agricultural field chronosequence in the Bolivian Altiplano. **Journal of Applied Ecology,** v. 50, n. 5, p. 1266-1273, 2013.

EPELDE, L.; BURGES, A.; MIJANGOS, I.; GARBISU, C. Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study. **Applied Soil Ecology**, v. 75, p. 1-12, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS –. **Status of the world's soil resources** (SWSR), 2015.

FERREIRA, E. P. B.; SANTOS, H. P.; COSTA, J. R.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N. G. Microbial soil quality indicators under different crop rotations and tillage management. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 177-183. 2010.

FERREIRA, E. P. B.; STONE, L. F.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. População e atividade microbiana do solo em Sistema agroecológico de produção. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 22-31, 2017.

FERREIRA, E. P. B.; WENDLAND, A.; DIDONET, A. D. Microbial biomass and enzyme activity of a Cerrado Oxisol under agroecological production system. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 1-9, 2011.

FERRIS, H.; BONGERS, T.; DE GOEDE, R. G. M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. **Applied Soil Ecology**, v. 18, n. 1, p. 13-29, 2001.

FOISSNER, W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators and guide to the literature. **Progress in Protistology**, p. 69-212. 1987.

GARCIA, J. L. M. **Curso Teórico e Prático sobre agricultura biológica**. Instituto de Agricultura Biológica: Itupeva, 2003.

GOULART, A. M. C.; FERRAZ, L. C. C. B. Comunidades de nematoides em cerrado com vegetacao original preservada ou substituída por culturas. Diversidade trófica. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 123-128, 2003.

GRIFFITHS, B. S. A comparison of microbial-feeding nematodes and protozoa in the rhizosphere of different plants. **Biology and Fertility of Soils**, v. 9, p. 83-88, 1990.

GUIMARAES, E. S.; SANTOS, C. L.; SILVA, L. J. A.; HENTZ, A.M. Caracterização Morfológica dos solos de quintal agroflorestal, floresta secundária e cultivo de maracujá no Assentamento Alegria, sudeste do Pará. **Revista Agroecossistemas**, v. 5, p. 45-49, 2013.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Documentos 283, Londrina: Embrapa Soja, 2007.

JASTROW, J. D.; MILLER, R. M. Methods for assessing the effects of biota on soil structure. *In*: CROSSLEY JUNIOR, D. A.; COLEMAN, D. C.; HENDRIX, P. F.; CHENG, W.; WRIGHT, D. H.; BEARE, M. H.; EDWARDS, C. A. **Modern techniques in soil ecology**. Amsterdam: **Elsevier Science**, 1991, p. 279-303.

LODWIG, E. M.; HOSIE, A. H. F.; BOURDÉS, A.; FINDLAY, K.; ALLAWAY, D.; KARUNAKARAN, R.; DOWNIE, J. A.; POOLE, P. S. Amino acid cycling drives nitrogen fixation in the legume–Rhizobium symbiosis. **Nature**, v. 422, p. 722–726, 2003.

MAIA, S. M. F.; XAVIER, F. A. D. S.; OLIVEIRA, T. S. D.; MENDONÇA, E. D. S.; ARAÚJO FILHO, J. A. Frações de nitrogênio em Luvissolo sob sistemas agroflorestais e convencional no semi-árido cearense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 381-392, 2008.

MARTINS, Marco Antônio. **Microbiologia do Solo**. UENF. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/50584465/microbiologia-do-solo-uenf>. Acesso em: 12 de janeiro de 2023.

MEDRADO, M. J. S. Sistemas agroflorestais: aspectos básicos e indicações. *In*: GALVAO, A. P. M. **Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais**. Brasília: Embrapa Florestas, 2000, p., 269-312.

MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F. B.; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; MERCANTES, F. M. ZILLI, J. E. **Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?** Documentos 246, Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010.

MIRANDA, Elias Melo de. **Fungos Micorrízicos Arbusculares em amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* krap. e greg.)**. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal Fluminense, Seropédica, 2008.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 729 p., 2006.

NEHER, D. A. Role of nematode in soil health and their use as indicator. **Journal of Nematology**, v. 33, n. 4, p. 161-168, 2001.

NEILSON, R. Nematode ecology: a current perspective. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25. 2005, Piracicaba. **Anais** [...]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

PACIULLO, D. S. C.; AROEIRA, L. J. M.; ALVIM, M. J.; CARVALHO, M. M. Características produtivas e qualitativas de pastagem de braquiária em monocultivo e consorciada com estilosantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 421-426, 2003.

PEARCE, D. A.; NEWSHAM, K. K.; THORNE M. A. S.; CALVO-BADO, L.; KRSEK, M.; LASKARIS, P.; HODSON, A.; WELLINGTON, E. M. Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil. **Frontiers in Microbiology,** v. 3: p. 1-13, 2012.

PENUELAS, J.; POULTER, B.; SARDANS, J.; CIAIS, P.; VAN DER VELDE, M.; BOPP, L.; NARDIN, E.; VICCA, S.; OBERSTEINER, M.; JANSSENS, I. A. Human-induced nitrogen–phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe. **Nature Communications**, v. 4, n. 2934, 2013.

PIZZANI, Rodrigo. **Produção e qualidade de forragens e atributos de um Argissolo Vermelho**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

POOLE, P.S.; ALLAWAY, D. Carbon and nitrogen metabolism in Rhizobium. **Advances in Microbial Physiology,** v. 43, p. 117–163, 2000.

PRESTEL, E.; REGEARD, C.; SALAMITOU, S.; NEVEU, J.; DUBOW, M.S.; The bacteria and bacteriophages from a Mesquite Flats site of the Death Valley desert. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 103, p. 1329–1341, 2013.

PRIGENT, M.; LEROY, M.; CONFALONIERI F.; DUTERTRE, M.; DUBOW, M. S. A diversity of bacteriophage forms and genomes can be isolated from the surface sands of the Sahara Desert. **Extremophiles**, v. 9, n. 4, p. 289-296, 2005.

RODRIGUES, Glória Regina Gonçalves. **Análise do crescimento de espécies vegetais utilizadas na restauração de áreas de restinga: resposta da adição de fungos micorrízicos arbusculares e nitrogênio**. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

RUSSELL, E. J.; HUTCHINSON, H. B. The effect of partial sterilization of soil on the production of plant food. **The Journal of Agricultural Science**, v. 3, n. 2, p.111-114, 1909.

SILVA, R. F.; AQUINO, A. M.; MERCANTE, F. M.; GUIMARÃES, M. F. Macrofauna invertebrada do solo sob diferentes sistemas de produção em Latossolo da Região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n. 4, n. 4, p. 697-704, 2006.

SILVA, Vinícius Gomes da. **Prospecção de rizóbios de leguminosas arbóreas em solos do Semiárido brasileiro sob diferentes usos da terra**. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2017.

SOARES, Pablo Guenther. **Efeito da inoculação com rizobio no estabelecimento, crescimento inicial e abundância natural de 15N em leguminosas (Fabaceae) arbóreas nativas plantadas por semeadura direta**. 2007. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SOHLENIUS, B.: The ecological potencial of the ectomycorrhizal mycelium. *In*: READ, D. J.; LEWINS, D. H.; FILTTER, A. H.; ALEXANDER, I. J. **Mycorrhizas in ecosystems**. Oikos, 1980, p.186-194.

SRINIVASIAH, S.; LOVETT, J.; GHOSH, D.; ROY, K.; FUHRMANN; J. J.; RADOSEVICH, M.; WOMMACK, K. E. Dynamics of autochthonous soil viral communities parallels dynamics of host communities under nutrient stimulation. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 7, p. 1-12, 2015.

SRINIVASIAH, S.; LOVETT, J.; POLSON, S.; BHAVSAR, J.; GHOSH, D.; ROY, K.; FUHRMANN, J. J.; RADOSEVICH, M.; WOMMACK, K. E. Direct assessment of viral diversity in soils by random PCR amplification of polymorphic DNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 18, p. 5450–5457, 2013.

TOMAZINI, M. D.; FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Abundância e Diversidade de Nematóides em Áreas contíguas de Vegetação Natural e Submetidas a Diferentes Tipos de Uso Agrícola. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 185-192, 2008.

VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 4, p. 743-755, 2009.

VILELA, W. T.; MINIGHIN, D. C.; GONÇALVES, L. C.; VILLANOVA, D. F. Q.; MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, R. V. G. Pastagens degradadas e técnicas de recuperação: Revisão. **PUBVET**, v. 11, n. 10, p. 1036-1045, 2017.

WHITFORD, W. G.; FRECKMAN, D. W.; SANTOS, P. F.; ELKINS, N. Z.; PARKER, L. W. The role of nematodes in decomposition in desert ecosystems**.** *In*: FRECKMAN, D. W. **Nematodes in soil ecosystems**. Austin: University of Texas Press, 1982, p. 98-117.

WIGINGTON, C. H.; SONDEREGGER, D.; BRUSSAARD, C. P.; BUCHAN, A.; FINKE, J. F.; FUHRMAN, J. A.; LENNON, J. T.; MIDDELBOE, M.; SUTTLE, C. A.; STOCK, C.; WILSON, W. H.; WOMMACK, K. E.; WILHELM, S. W.; WEITZ, J. S. Re-examination of the relationship between marine virus and microbial cell abundances. **Nature Microbiology**, v. 1, n. 3, p. 1-8, 15024, 2016.

WILLIAMSON, K. E.; RADOSEVICH, M.; WOMMACK, K. E. Abundance and diversity of viruses in six Delaware soils. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 6, p. 3119-3125, 2005.

WILLIAMSON, K. E.; FUHRMANN, J. J.; WOMMACK, K. E.; RADOSEVICH M. Viruses in Soil Ecosystems: An Unknown Quantity Within an Unexplored Territory. **Annual Review of Virology**, v. 4, n. 1, p. 201-219, 2017.

ZABLOCKI, O.; ADRIAENSSENS, E. M.; COWAN D. Diversity and Ecology of Viruses in Hyperarid Desert Soils. **Applied Environmental** Microbiology, v. 82, n. 3, p. 770-777, 2015.

# CAPÍTULO 15

# NUTRITIONAL SAFETY IN INSECT BY-PRODUCTS FOR PET FOOD

*Data de submissão: 07/12/2023* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Apolônio Gomes Ribeiro**
Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Zootecnia
Areia-PB
https://orcid.org/0000-0001-6730-0209

**Dayane Albuquerque da Silva**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0001-6243-3969

**Hilton Nobre da Costa**
Universidade Federal Rural de Pernambuco Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-3485-3162

**Webert Aurino da Silva**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0003-0802-1773

**Marcos José Batista dos Santos**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0002-6023-3426

**Gilcifran Prestes de Andrade**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0001-6347-7242

**Elisabete Albuquerque dos Santos Benvenuto**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-6625-4797

**Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0003-4895-2599

**Emmanuela Prado de Paiva Azevedo**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Tecnologia Rural
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-8682-7556

**Carlos Bôa-Viagem Rabello**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0002-5912-162X

**Camilla Mendonça Silva**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0001-5259-9316

**Júlio Cézar dos Santos Nascimento**
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
https://orcid.org/0000-0003-3107-5876

**ABSTRACT:** The production of insects for animal feed emerges as a sustainable alternative, standing out for its efficiency in land use compared to conventional animal production. Characterized by a rapid life cycle, insects allow massive production, taking advantage of by-products from the agri-food industry as food substrate, avoiding competition with more expensive ingredients intended for human and animal food. In addition to having low greenhouse gas emissions, zootechnical entomoculture benefits economic efficiency with more sustainable production systems. In the PET FOOD industry, insects stand out for containing significant levels of protein, essential amino acids, fatty acids, macro and microminerals, vitamins, peptides with biological activity and chitin with prebiotic action. Insect farming demonstrates socioeconomic viability, providing subsistence and business opportunities on different scales. However, given the advances in the production of biomass from food insects, it is essential to understand the risks associated with consumption by dogs and cats.
**KEYWORDS**: Production of insects, by-products, food insects, insect farming, animal nutrition.

## SEGURANÇA NUTRICIONAL EM SUBPRODUTOS DE INSETOS PARA PET FOOD

**RESUMO:** A produção de insetos para a alimentação animal emerge como uma alternativa sustentável, destacando-se pela eficiência no uso da terra em comparação com a produção animal convencional. Caracterizados por um ciclo vital rápido, os insetos permitem uma produção massiva, aproveitando subprodutos da indústria agroalimentar como substrato alimentar, evitando concorrência com ingredientes mais caros destinados à alimentação humana e animal. Além de apresentarem baixas emissões de gases de efeito estufa, a entomocultura zootécnica beneficia a eficiência econômica com sistemas de produção mais sustentáveis. Na indústria PET FOOD, os insetos destacam-se por conterem níveis significativos de proteína, aminoácidos essenciais, ácidos graxos, macro e microminerais, vitaminas, peptídeos com atividade biológica e quitina com ação prebiótica. A entomocultura zootécnica demonstra viabilidade socioeconômica, proporcionando oportunidades de subsistência e negócios em diferentes escalas. Contudo, diante do avanço na produção de biomassa de insetos alimentícios, é essencial compreender os riscos associados ao consumo por cães e gatos.
**PALAVRAS-CHAVE**: Produção de insetos, subprodutos, insetos alimentícios, entomocultura,

nutrição animal.

## 1 I INTRODUCTION

By 2050, the global human population is predicted to be approximately 9 to 11 billion (Legendre and Baker, 2020); therefore, the priority is food security and environmental issues related to food production and consumption. According to estimates by the World Health Organization (WHO), up to 870 million people may suffer from malnutrition during this period due to a lack of food (Baker et al., 2016). Another major global concern is the production of food intended for feeding production and companion animals, which are responsible for a large part of environmental impacts. Within this context of prospecting for new, more sustainable ingredients, the production of insects for human and animal food appears as an efficient alternative in terms of land use compared to traditional animal production (Kępińska-Pacelik and Biel, 2022).

Edible insects have a rapid life cycle and development, facilitating their mass production. Furthermore, by-products from the agri-food industry can be used as a substrate for feeding these animals, not requiring more expensive ingredients that compete with human and animal food (Makkar et al., 2014). The production of insect biomass to obtain by-products is characterized by lower greenhouse gas emissions than the farming of vertebrate animals (Halloran et al., 2014). Furthermore, the benefits of zootechnical entomoculture can increase economic efficiency through more sustainable and cost-effective production systems (Kępińska-Pacelik and Biel, 2022).

It is generally considered that insects and their by-products are interesting ingredients for the PET FOOD industry, as they have notable levels of protein, essential amino acids and fatty acids, as well as a variety of macro and microminerals, vitamins (Rumpold and Schülter, 2013), as well as bioactive compounds, such as peptides with biological activity (antioxidant, antimicrobial, anti-cancer and anti-hypertensive) and chitin (with proven prebiotic action) (Cruz-Monterrosa and Liceaga, 2022). In the socio-economic sphere, insect farming demonstrates important viability as a subsistence and business opportunity, ranging from small producers to micro-enterprises and multinationals (Pyett et al., 2023).

Among edible insect species, some have received greater attention because they are considered to have greater industrial potential for applications in the area of food and animal feed. It is interesting to mention the housefly (*Musca domestica*), black soldier fly (Hermetia illucens), mealworm or Mealworm (*Tenebrio molitor*), giant Tenebrious (*Zophobas atratus*), mealworm (*Alphitobius diaperinus*), Wax Moth (*Galleria mellonella*), Lesser Wax Moth (*Achroia grisella*), Silkworm (*Bombyx mori*), House Cricket (*Acheta domesticus*), Cinerea Cockroach (*Nauphoeta cinerea*), Cockroach de-Madagascar (*Gromphadorhina portentosa)* and Dubia Cockroach (*Blaptica dubia*) (EFSA, 2015).

In Brazil, the Ministry of Agriculture and Livestock (MAPA) issued Normative

Instruction N° 110 (IN 110/2020), which lists some species of insects that can be used as raw materials, additives, or vehicles for use in animal feed, except for ruminant animals (Costa, 2021). This IN includes dehydrated adult Cinereous Cockroach (Nauphoeta cinerea), dehydrated or non-fat chrysalis flour, dehydrated black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae flour, dehydrated adult black cricket (*Gryllus assimilis*) and ground dehydrated larvae or not of Mealworm (Tenebrio molitor) and giant Tenebrio (*Zophobas morio*) (Brazil, 2020).

With the increasing advancement in the production and commercialization of food insect biomass, it is necessary to have a greater understanding of the risks associated with the consumption of insect products and by-products by dogs and cats.

## 2 I CHEMICAL RISK

Several chemical risks inherent to the consumption of insect by-products for dogs and cats have been reported in the scientific literature. Worryingly, insects can be vectors for antimicrobial resistance genes, according to Channaiah et al. (2010). It is mentioned in the literature that symbiotic fungi (including Aspergillus spp.) are present in the intestine of *Acheta domesticus* and are capable of producing or modifying toxins, which is why studies have emerged investigating the detection and quantification of mycotoxins in insect by-products and their effects on the metabolism of dogs and cats (Fernandez-Cassi et al., 2019).

Bednarska et al. (2015) proved the possibility of bioaccumulation of heavy metals in insects. In these studies, *Gryllus assimilis* were exposed to diets enriched with zinc or cadmium. It was concluded that zinc accumulation occurred at the highest level of exposure, while tissue bioaccumulation occurred for cadmium at a lower level of exposure.

In the case of the black soldier fly larva (*H. illucens*), it was demonstrated that the absorption of heavy metals can influence its growth rate, but the effect of heavy metals on the intestinal microbiota of the live larva is largely unknown and requires further studies. In studies by Wu et al. (2020), the effect of copper and cadmium on the growth and intestinal microma of black soldier fly larvae was analyzed, as well as the distribution of heavy metals accumulated in the larvae and their excreta. The experiments by Proc et al. 2020 demonstrated the ability of *H. illucens* to bioaccumulate Cu, Fe, Hg, Mg, Mo, Se, and Zn, and this accumulation occurred at all stages of insect development. From the point of view of dog and cat food production, it is obvious that the content of toxic heavy metals must be monitored, and their effects must be further studied.

## 3 I MICROBIOLOGICAL RISK

Biological contaminants refer to species of pathogenic microorganisms, such as bacteria and fungi, and the toxic metabolites they produce, in addition to viruses and

parasites (Vandeweyer et al., 2021). When analyzing the microbiological aspects of edible insect species, it is essential to consider that they naturally harbor microorganisms, which are essential for their metabolic functions (Jordan and Tomberlin, 2021). The composition of the microbiome is associated with factors such as vertical transmission as well as production and processing conditions (Garofalo et al., 2019). However, the possible presence of biological contaminants is one of the main risks associated with entomoculture (Garofalo et al., 2019), considering that these agents affect the safety of insects as food, with adverse implications for animal health and impacting product quality (Kooh et al., 2019).

It is important to highlight that food insects are recognized as safe as long as prophylactic measures are implemented during breeding and slaughter using correct and efficient techniques, which promote a reduction in the microbial load (Wade and Hoelle, 2020). However, for a product to be considered microbiologically safe, it is necessary that, in a pre-determined quantity for analysis, certain contaminants are below a defined level or are not detected (Brasil, 2022). Values are expressed in Colony Forming Units per gram or milliliter (CFU/g or CFU/mL) or based on the logarithm of this result (log CFU/g or log CFU/mL) (Messina et al., 2019).

## 4 | ALLERGENIC RISK

Despite the numerous advantages of using insects to feed canines and felines, it is necessary to analyze the risk of adverse food reactions, including allergic reactions (Broekman et al., 2017). Allergy is a hypersensitivity reaction initiated by specific immunological mechanisms. The clinical signs of food allergy can affect a variety of organs and systems in dogs and cats, including the skin, intestine, and respiratory, circulatory, and nervous systems. They can range from mild symptoms of hypersensitivity, such as itching in the mouth, to severe, systemic, and often fatal reactions, such as anaphylactic shock (De Martinis et al., 2020). Food allergies are a common cause of skin diseases in dogs and cats, where skin symptoms in food-allergic dogs can include itching and erythematous dermatitis of the face and ear canals (Kim and Kim, 2020).

Research indicates that insects can also be a trigger for food allergies. An allergy related to insect consumption can be caused by a primary sensitization or by a cross-reaction with another allergen (de Gier and Verhoeckx, 2018). In a study carried out by Kim and Kim (2020) with the aim of investigating the interaction between T. molitor proteins and the immune system of dogs with clinical signs of allergy and dust mite allergy, compared to a control group of clinically healthy dogs, no evident correlation was found between dust mite allergy and the clinical condition of dogs. In this study, the binding of canine serum IgE to mealworm proteins was confirmed, but the differences between healthy and allergic dogs were nonsignificant. The results of these studies suggest that dogs allergic to dust mites may also exhibit clinical cross-reactivity with tenebrious mealworm proteins.

Therefore, caution should be exercised when using mealworms as an alternative source of dietary protein.

## 5 I CONCLUSION

Insects can be used in the dog and cat food industry, a fact that is supported by evolution in the adaptation of their wild ancestors to entomophagy in the natural environment. The chemical composition of insects also corresponds to the nutritional needs of dogs and cats, as insect by-products are characterized by a very good nutritional value (high protein content, high content of essential amino acids and fatty acids, including lauric acid) and good acceptability. However, diets containing insect proteins and their effects on animals require careful analysis, especially in terms of the risk of adverse reactions to foods, including allergic reactions that can be caused by consuming insects. Other hazards are related to microbiological or chemical contamination. There must be quality control to prevent them from being contaminated with anthropogenic factors during creation, packaging, cooking, or eating. These contaminants include the presence of bacteria, fungi, mycotoxins, and heavy metals, metals, among others. More studies are needed to look at the use of insects and their products in the diet of dogs and cats, associating the levels of inclusion in the diet with microbiological, chemical, and allergenic risks in the short to long term.

## REFERENCES

Legendre, T.S.; Baker, M.A. **Legitimizing edible insects for human consumption: The impacts of trust, risk–benefit, and purchase activism**. Journal of Hospitality & Tourism Research 46: 467–489, 2020. doi: https://doi.org/10.1177/1096348020914375

Baker, M.A.; Shin, J.T.; Kim, Y.W. **An exploration and investigation of edible insect consumption: The impacts of image and description on risk perceptions and purchase intent**. Psychology & Marketing 33: 94–112, 2016. doi: https://doi.org/10.1002/mar.20847

Kępińska-Pacelik, J.; Wioletta Biel, W. **Insects in Pet Food Industry—Hope or Threat**? Animals 12: 1515, 2022. doi: https://doi.org/10.3390/ani12121515

Makkar, H.; Tran, G.; Heuzé, V.; Ankers, P. **State-of-the-art on use of insects as animal feed**. Animal Feed Science and Technology 197: 1–33, 2014. doi: https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008

Halloran, A.; Muenke, C.; Vantomme, P.; Van Huis, A. **Insects in the human food chain: Global status and opportunities**. Food Chain 4, 103–118, 2014. doi: https://doi.org/10.3362/2046-1887.2014.011

Rumpold, B.A.; Schlüter, O.K. **Nutritional Composition and Safety Aspects of Edible Insects**. Molecular Nutrition and Food Research 57(5): 802-823, 2013. doi: https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735

Aguilar-Toalá, J.E.; Cruz-Monterrosa, R.G.; Liceaga, A.M. **Beyond Human Nutrition of Edible Insects: Health Benefits and Safety Aspects**. Insects 13(11):1007, 2022. doi: https://doi.org/10.3390/insects13111007

Pyett, S.C.; Jenkins, W.M.N.; van Mierlo, B.C.; Trindade, L.M.; Welch, D.; Van Zanten, H.H.E. **Our future proteins: a diversity of perspectives**. Amsterdam: VU University Press, 575p., 2023. Available at: https://vuuniversitypress.com/product/ourfutureproteins/?lang=en

EFSA, European Food Safety Authority – Scientific Committee. **Scientific Opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed**. EFSA Journal 13(10): 60, 2015. doi: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257

BRASIL. **Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa** Nº110, de 24 de **novembro de 2020**. Publica a lista de matérias-primas aprovadas como ingredientes, aditivos e veículos para uso na alimentação animal. Ministério da Agricultura e Pecuária. Brasília, DF, 04 dez. 2020.

Channaiah, L.H.; Subramanyam, B.; Mckinney, L.J.; Zurek, L. **Stored-product insects carry antibiotic-resistant and potentially virulent enterococci**. FEMS Microbiology Ecology 74(2): 464–472, 2010. doi: https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00949.x

Fernandez-Cassi, X.; Supeanu, A.; Jansson, A.; Boqvist, S.; Vagsholm, I. **Novel foods: A risk profile for the house cricket (Acheta domesticus)**. EFSA Journal 16: e16082, 2019. doi: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.e16082

Bednarska, A.J.; Opyd, M.; Zurawicz, E.; Laskowski, R. **Regulation of body metal concentrations: Toxicokinetics of cadmium and zinc in crickets**. Ecotoxicology and Environmental Safety 119: 9–14, 2015. doi: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.056

Wu, R.A.; Ding, Q.; Yin, L.; Chi, X.; Sun, N.; He, R.; Li, Z. **Comparison of the nutritional value of mysore thorn borer (Anoplophora chinensis) and mealworm larva (Tenebrio molitor): Amino acid, fatty acid, and element profiles**. Food Chemistry 323: 126818–126826, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126818

Proc, K.; Bulak, P.; Wiącek, D.; Bieganowski, A. **Hermetia illucens exhibits bioaccumulative potential for 15 different elements— Implications for feed and food production**. Science of The Total Environment 723: 138125–138133, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138125

Vandeweyer, D.; Smet, J.D.; Van Looveren, N.; Van Campenhout, L. **Biological contaminants in insects as food and feed**. Journal of Insects as Food and Feed 7(5): 807 – 822, 2021. doi: https://doi.org/ 10.3920/JIFF2020.0060

Jordan, H.R.; Tomberlin, J.K. **Microbial influence on reproduction, conversion, and growth of mass produced insects**. Current Opinion in Insect Science 48: 57-63, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.10.001

Garofalo, C.; Milanović, V.; Cardinali, F.; Aquilanti, L.; Clementi, F.; Osimani, A. **Current knowledge on the microbiota of edible insects intended for human consumption: A state-of-the-art review**. Food Research International 125: 108527, 2019. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108527

Kooh, P.; Ververis, E.; Tesson, V.; Boué, G.; Federighi, M. **Entomophagy and public health: a review of microbiological hazards**. Health 11(10): 1272 – 1290, 2019. doi: https://doi.org/10.4236/health.2019.1110098

Wade, M.; Hoelle, J. **A review of edible insect industrialization: scales of production and implications for sustainability**. Environmental Research Letters 15(12): 123013, 2020. doi: https://doi.org/10.1088/1748-9326/aba1c1

BRASIL. **Ministério da Saúde. Instrução Normativa** Nº161, de 01 de **julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 06 jul. 2022.

Messina, C.M.; Gaglio, R.; Morghese, M.; Tolone, M.; Arena, R.; Moschetti, G.; Santulli, A.; Francesca, N.; Settanni, L. **Microbiological Profile and Bioactive Properties of Insect Powders Used in Food and Feed Formulations**. Foods 8(9): 400, 2019. doi: https://doi.org/10.3390/foods8090400

Broekman, H.C.H.P.; Knulst, A.C.; Jong, G.; Gaspari, M.; Jager, C.F.D.H.; Houben, G.F.; Verhoeckx, K.C.M. **Is mealworm or shrimp allergy indicative for food allergy to insects?** Molecular Nutrition & Food Research 61(9): 1601061, 2017. doi: https://doi.org/10.1002/mnfr.201601061

De Martinis, M.; Sirufo, M.M.; Suppa, M.; Ginaldi, L. **New perspectives in food allergy**. International Journal of Molecular Sciences 21(4): 1474, 2020. doi: https://doi.org/10.3390/ijms21041474

Kim, Y.B.; Kim, D.H.; Jeong, S.B.; Lee, J.W.; Kim, T.H.; Lee, H.G.; Lee, K.W. **Black soldier fly larvae oil as an alternative fat source in broiler nutrition**. Poultry Science 99(6): 3133–3143, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.018

De Gier, S.; Verhoeckx, K. **Insect (food) allergy and allergens**. Molecular Immunology 100, 82–106, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.03.015

# CAPÍTULO 16

# PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LA MIEL CHILENA DE LA *Eucryphia cordifolia (miel de ulmo)*

*Data de submissão: 10/01/2024*

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Jorge Veloz Pérez**
Universidad San Sebastián. Facultad de Medicina y Ciencia.
Región Metropolitana. Chile.
https://orcid.org/0000-0001-9275-9433
Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Medicina y Ciencia, Campus Los Leones, Lota 2465, Providencia 7500000, Chile

**Felipe Cabezas**
Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Medicina y Ciencia, Campus Los Leones, Lota 2465, Providencia 7500000, Chile

**Monica Lespinansse Cortés**
Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Medicina y Ciencia, Campus Los Leones, Lota 2465, Providencia 7500000, Chile

**RESUMEN**: Las mieles monoflorales obtenidas de Ulmo se han asociado con propiedades farmacológicas para su uso en patologías cutáneas. Esta planta de la especie Eucryphia cordifolia es nativa de las regiones al sur de Chile. La miel de ulmo es rica en minerales como calcio, zinc, hierro, vitaminas y otros compuestos orgánicos y se le atribuyen propiedades antimicrobianas, balsámicas y curativas. Este estudio se basó en la hipótesis de que la acción antifúngica de la miel de ulmo está vinculada a su contenido de polifenoles. El objetivo fue evaluar su efecto antimicótico in vitro frente a la cepa de Cándida albicans ATCC 29213 y determinar los compuestos polifenólicos y flavonoides presentes en el producto apícola.Los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron por triplicado utilizando un antibiograma en placas de Petri con medio enriquecido para cándidas y discos de papel de filtro. Se calculó la media y desviación estándar. Los polifenoles totales fueron 10.8 mg/100g (equivalentes a gramos de pinocembrina) y los flavonoides totales fueron 4.6 mg/100g (equivalentes a gramos de quercetina). Los valores de MIC para la miel de ulmo fueron 10.1 ± 1.7 mm, en comparación con el control Miconazol de 15.5 ± 3.2 mm. Se empleó el test de ANOVA Multiple Comparison con post test de Tukey para el análisis estadístico. Los resultados sugieren propiedades antimicrobianas de la miel de ulmo relacionadas con su alto contenido de polifenoles; sin embargo, se requieren estudios experimentales adicionales para comprender los mecanismos subyacentes

de su acción antifúngica.

## THERAPEUTIC PROPERTIES OF CHILEAN HONEY FROM *Eucryphia cordifolia* *(Ulmo honey)*

**ABSTRACT**: Monofloral honeys obtained from Ulmo have been associated with pharmacological properties for use in skin pathologies. This plant of the Eucryphia cordifolia species is native to the southern regions of Chile. Ulmo honey is rich in minerals such as calcium, zinc, iron, vitamins and other organic compounds and has antimicrobial, balsamic and healing properties. This study was based on the hypothesis that the antifungal action of ulmo honey is linked to its polyphenol content. The objective was to evaluate its antifungal effect in vitro against the ATCC 29213 strain of Candida albicans and determine the polyphenolic and flavonoid compounds present in the bee product. Antimicrobial activity assays were performed in triplicate using an antibiogram in Petri dishes with candida-enriched medium and filter paper discs.The mean and standard deviation were calculated. Total polyphenols were 10.8 mg/100g (equivalent to grams of pinocembrin) and total flavonoids were 4.6 mg/100g (equivalent to grams of quercetin).Values of MIC for ulmo honey were 10.1 ± 1.7 mm, compared to the control Miconazole of 15.5 ± 3.2 mm.ANOVA Multiple Comparison test with Tukey’s post test was used for statistical analysis.The results suggest antimicrobial properties of ulmo honey related to its high polyphenol content; however, additional experimental studies are required to understand the underlying mechanisms of its antifungal action.
**KEYWORDS**: Eucryphia cordifolia, Ulmo honey, antimicrobial activity.

## INTRODUCCIÓN:

Las plantas pueden sintetizar diferentes metabolitos secundarios moléculas están implicadas en muchos en los procesos fisiológicos de los vegetales.

Los grupos fenólicos de compuestos han sido mencionados en muchas publicaciones, se identificaron aproximadamente 4000 fenoles vegetales. Diversos tipos de flavonoides como flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanonoles, isoflavonas, antocianidinas y taninos fueron cuantificados en propóleos chilenos. Las sustancias fenólicas se caracterizan por la presencia de más de un anillo aromático (unidad de fenol) o bloque de construcción por molécula (1).

Varios autores han relacionado algunas variables como la zona de colecta, estación del año, tipo de vegetación o clima con la composición de los productos apícolas y so contenido de compuestos polifenólicos.El área fitogeográfica en el caso de la miel de ulmo determina el predominio de granos de polen de la especie *Eucryphia cordifolia* en más de un 45% (2,3,4).

La miel es un producto obtenido por la abeja (Apis mellifera) y es un importante producto natural que posee elevado valor nutricional y además puede ser utilizada en el tratamiento de algunas afecciones respiratorias y dermatológicas (5).

## DESARROLLO:

En nuestro estudio se tomaron 0,5 gramos de miel de ulmo y se mezclaron 25 $\mu$L de esta muestra con 450 $\mu$L de agua desionizada, agregando 1500 $\mu$L de solución A (1% de SDS;0.4 % NaOH, 2 % de $Na_2CO_3$;0.16 %- tartrato de sodio y potasio) Esta mezcla se incubó a 37 ºC durante 10 minutos, para después agregar 150 $\mu$L del reactivo FolinCiocalteu 0.2 N. Los polifenoles totales se expresaron en mg de pinocembrina.Se determinó la absorbancia de la solución en un espectrofotómeto Jenway a 750 nm y se interpoló la absorbacnia en una curva de calibración elaborada con estándares comerciales de pinocembrina (6).

Para la determinación del contenido de flavonoides totales se midieron 250 $\mu$L del extracto de miel y se mezclo con 1000 $\mu$L de agua desionizada, se añadió 75 $\mu$L de $NaNO_2$ para dejar reaccionar por 5 minutos. Luego se adicionaron 75 $\mu$L de $AlCl_3$ al 10 % (tricloruro de aluminio) y 500 $\mu$L de NaOH (1M).Los flavonoides totales fueron expresados en mg de quercetina Las absorbancias fueron medidas a 510 nm en espectrofotometro Jenway y se interpoló la absorbancia en una curva de calibración elaborada con estándares comerciales de quercetina.(6).

El contenido de polifenoles totales obtenido se cuantificó en 10.8mg ± 0.04 mg /100g equivalentes a gramos de pinocembrina,mientras que los flavonoides totales se calcularon en 4.6mg ±0.14 mg /100g equivalentes a gramos de quercetina.

Para los ensayos de actividad antimicrobiana se utilizó la técnica de difusión en placas petri.Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se calculó la media y desviación estándar.

El estuido de las propiedades antimicrobianas como por ejemplo su efecto antifúngico frente a cepas de cándida albicans se realizó mediante la técnica de difusión en placas Petri. Se utilizó medio de cultivo Agar Sabouraud y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se aplicaron discos de papel de filtro whatman 1 que contenían 0,5 gramos de miel de ulmo y 0,5 gramos de miconazol como control. Se realizó la medición de los halos de inhibición (en milímetros), los ensayos reaizados por triplicado permitieron obtener datos para la aplicación de técnicas estadísticas. Para el análisis estadístico se empleo el test de ANOVA Multiple Comparison con post test deTukey con significación estadística (p-value) de 0.5.

Los valores de MIC para la miel de ulmo fueron de 10.1 ± 1.7 mm, en comparación con el control Miconazol 15.5 ± 3.2 mm.(observar Figura Nro.1 y Tabla Nro.1)

| Tratamiento antifúngico | MIC | *p-value |
|---|---|---|
| Miel de ulmo 0,5 gr | 10.1 ± 1.7 | p< 0.5 |
| Miconazol 0,5 gr | 15.5 ± 3.2 | - |

Tabla nro.1. Actividad antifúngica de la miel de ulmo frente a cepa ATCC 29213 de *C. albicans*.

Los valores de inhibición (en milímetros) se analizaron utilizando el test de ANOVA Múltiple con post test deTukey's.*p-value, expresa el nivel de significación estadística.

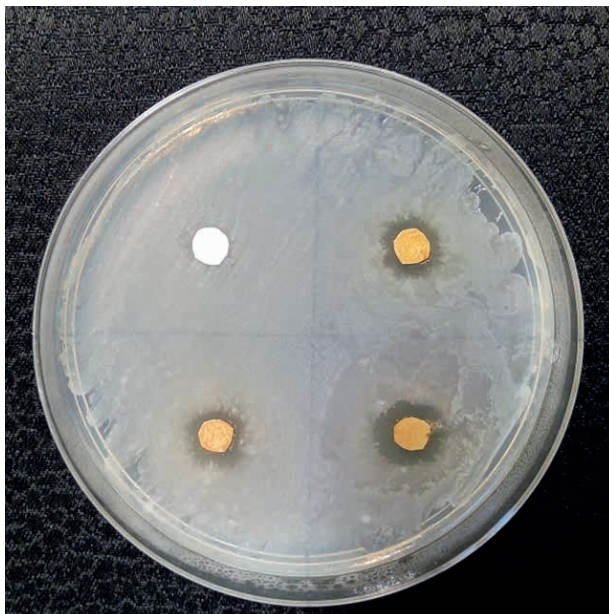



Figura Nro.1.Ensayo de actividad antifúngica de la miel de ulmo frente a cepa ATCC 29213de *C.albicans*. Técnica de disfusión en placas Petri.

La miel es un producto natural que se ha incluido ampliamente en investigaciones relacionadas con problemas de salud en el ser humano. Además, otros productos de abeja como miel y jalea real son muy ricos en compuestos bioactivos como esenciales y no esenciales compuestos y vitaminas con propiedades farmacológicas. Estas moléculas se pueden incluiren nutracéuticos y alimentos funcionales y permitirá beneficios para la salud. Algunos investigadores han evaluado la efectividad de la miel de abejas en la cicatrización de heridas, en el tratamiento del ¨pie diabético¨ y mejorar lesiones en la piel en pacientes con psoriasis y eczema, además se ha empleado en casos de dermatitis pediátrica (7).

Estudios realizados en Chile permitieron evidenciar los efectos cicatrizantes de las mieles chilenas, estos resultados se asociaron además con sus efectos antioxidantes y antimicrobianos que ya han sido mencionados con anterioridad.(8)

Los polifenoles presentes en la miel de ulmo y los taninos, compuestos que han sido cuantificados también en propóleos han permitido estudiar la capacidad ciatrizante de los productos apícolas.En el caso de algunas muestras de propóleos chilenos presentaron elevado contenido de compuestos fenólicos donde se identificaron flavonoides, antocianidinas, taninos y otros tipos de moléculas (9).

Dentro de los mecanismos que se han planteado para la acción cicatrizante de la miel se encientra su efecto inhibidor de la producción ROS, por células monocíticas (MM6), además existen otros compuestos asociados a la actividad antioxidante como el ácido ascórbico, vitaminas del complejo B, tocoferoles, catalasa, superóxido dismutasa, glutatión

reductasa, péptidos y varios tipos de aminoácidos(8,10).

Adicionalmente la miel de abejas se ha relacionado con otras propiedades biológicas que la hacen util en el tratamiento de patologías digestivas como diarrea, estreñimiento y gastroenteritis (7).

## CONCLUSIONES:

En el caso de dentro de la Miel de Ulmo obtenida desde la especie *Eucryphia cordifolia,* ha sido poco estudianda y se requieren estudios adicionales para explorar algunas porpiedades farmacológicas como lo son su poder antioxidante, cicatrizante y regenerador.

## REFERENCIAS

1. Vacek, J. Bořivoj, J. Šimánek, V.(2010) Analytical methos and strategies in the study of plant polyphenolics in clinical samples.Anal Methods 2(6): 604-613.

2. Isla, M. Zampini, I.Ordoñez, R.(2009).Effect of Seasonal Variations and Collection Form on Antioxidant Activity of Propolis from San Juan, Argentina. J Med Food.2009.12 (6): 1334–1342.

3. Montenegro, G.Timmermann,Peña B.(2000).Pollen grains and vegetative structures in propolis as indicators of potencial reactions in Chilean plants. Phyton.66:15-23

4. Montenegro G.;Pizarro R.;Mejias(2013). E.biologiacal evaluation of bee polle from native Chilean plants. ΦYTON 2013, 82, 7-14

5. Garcia,M.Armenteros,E.Escobar,M.Garcia,J.Méndez J, Ramos, G.(2022).Composición química de la miel de abeja y su relación con los beneficios a la salud. Rev.Med.Electrón.44(1).

6. Muñoz, A.Alvarado-ortiz, C.Blanco,T.Castañeda, B.Ruiz,J. Alvarado,A.(2014).Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales.Rev Soc Quim Perú,80(4).

7. Rao Pasupuleti, V. Sammugam, L.Ramesh, N. Hua Gan, S.(2017) Honey, propolis and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev 2017:1259510.

8. Shencke, C.Vásquez, B. Sandoval, C. Del Sol, M.(2016). El Rol de la Miel en los Procesos Morfofisiológicos de Reparación de Heridas.Int. J. Morphol., 34(1):385-395.

9. Alvear M. Santos E. Cabezas F.(2021) geographic Area of Collection Determines the Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Three Extracts of Chilean Propolis.Plants 2021.10,1543. doiorg/10.3390/plants10081543.

10. Shencke, C.Vasconcelos, A. Sandoval, J. Del Sol,M.Efecto Cicatrizante de la Miel de Ulmo (Eucryphia cordifolia) Suplementada con Ácido Ascórbico como Tratamiento en Quemaduras Int. J. Morphol., 33(1):137-3143.

CAPÍTULO 17

# PROTOCOLO DE ASSEPSIA PARA A MICROPROPAGAÇÃO DE CANA DE AÇÚCAR

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Ana Hellen Oliveira Tavares**
Pontifícia universidade católica do Paraná-PUC-PR
Iracema do Oeste, Paraná, Brasil

**Juliana Claudia Grings Rossato**
Pontifícia universidade católica do Paraná-PUC-PR
Palotina, Paraná, Brasil

**Sara Gabrieli Zancanella**
Pontifícia universidade católica do Paraná-PUC-PR
Mercedes, Paraná, Brasil

**RESUMO:** A cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.) tem grande importância econômica na agricultura no Brasil e, mais recentemente, com a utilização do etanol em escala mundial, torna-se ainda mais relevante. A forma mais utilizada para a obtenção de mudas dessa espécie é a partir de segmentos de colmos. No entanto, um problema muito recorrente nessa forma de propagação é a disseminação de doenças. Uma ferramenta que pode ser utilizada a fim de minimizar isso é a micropropagação, técnica considerada uma alternativa vantajosa para a multiplicação de plantas, devido à economia de tempo em relação às técnicas convencionais, além da obtenção de mudas de excelente qualidade fitossanitária e geneticamente idênticas ao material de origem. Dessa forma este trabalho teve como objetivo testar três protocolos de assepsia em meristema apical de cana-deaçúcar a fim de obter plantas micropropagadas. O experimento foi realizado no laboratório de Biotecnologia da PUC-PR, campus Toledo. Para a realização do experimento foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado contendo três tratamentos com 10 repetições cada. Os tratamentos testados foram: T1 (tríplice lavagem em água destilada, álcool 70% por 2 minutos, 2% hipoclorito de sódio (NaClO) durante 15 minutos,1,5% de ácido cítrico por 5 minutos); T2 (álcool 70% por 30 segundos por três vezes, imersão em água destilada, 2% de NaClO durante 15 minutos,1,5% de ácido cítrico por 3 minutos); T3 (tríplice lavagem em água destilada, álcool 70% por 1 minuto, 2% de NaClO durante 15 minutos, 2,5% fungicida mancozeb por 15 minutos). Todos os meristemas foram inoculados em meio MS + carvão ativado (2g.L-1 ), e mantidos em sala de crescimento (25ºC) no escuro por 15 dias. O tratamento 2 promoveu melhor resultado (40 % de explantes sadios).

Porém, essa porcentagem é considerada um valor baixo, com isso novos testes deverão ser realizados para aumentar a porcentagem de explantes sadios.
**PALAVRAS-CHAVE:** Saccharum officinarum L, propagação, meristema apical.

## ASEPSY PROTOCOL FOR SUGAR CANE MICROPROPAGATION

**ABSTRACT:** Sugarcane (Saccharum officinarum L.) has great economic importance in agriculture in Brazil and, more recently, with the use of ethanol on a global scale, it becomes even more relevant. The most commonly used way to obtain seedlings of this species is from stem segments. However, a very common problem in this form of propagation is the spread of diseases. A tool that can be used to minimize this is micropropagation, a technique considered an advantageous alternative for the multiplication of plants, due to the time savings compared to conventional techniques, in addition to obtaining seedlings of excellent phytosanitary quality and genetically identical to the source material. Therefore, this work aimed to test three asepsis protocols in sugarcane apical meristem in order to obtain micropropagated plants. The experiment was carried out in the Biotechnology laboratory at PUC-PR, Toledo campus. To carry out the experiment, a completely randomized design was used, containing three treatments with 10 replications each. The treatments tested were: T1 (triple washing in distilled water, 70% alcohol for 2 minutes, 2% sodium hypochlorite (NaClO) for 15 minutes, 1.5% citric acid for 5 minutes); T2 (70% alcohol for 30 seconds three times, immersion in distilled water, 2% NaClO for 15 minutes, 1.5% citric acid for 3 minutes); T3 (triple washing in distilled water, 70% alcohol for 1 minute, 2% NaClO for 15 minutes, 2.5% mancozeb fungicide for 15 minutes). All meristems were inoculated in MS medium + activated charcoal (2g.L-1) and kept in a growth room (25ºC) in the dark for 15 days. Treatment 2 promoted the best result (40% of healthy explants). However, this percentage is considered a low value, so new tests must be carried out to increase the percentage of healthy explants.
**KEYWORDS:** Saccharum officinarum L, propagation, apical meristem.

## 1 I INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.) tem grande importância econômica na agricultura no Brasil e, mais recentemente, com a utilização do etanol em escala mundial, torna-se ainda mais relevante. A propagação convencional desta espécie é realizada a partir de segmentos de colmos provenientes de plantas do campo, após o primeiro ou segundo ano de plantio. Porém, novas variedades estão continuamente sendo desenvolvidas e sua disponibilização pode ser acelerada por meio da biotecnologia, via micropropagação (OLIVEIRA et al., 2010).

Na cana-de-açúcar, diversos estudos têm demonstrado que o tecido mais adequado para a micropropagação é o meristema apical, oriundo de perfilho jovens, com grande vigor e crescimento, e que sejam removidos de colmos de tamanhos variando entre vinte e oitenta centímetros (CIDADE et al., 2006).

Uma vez que cada espécie ou clone apresenta características únicas, determinadas

por fatores genéticos, as necessidades para seu cultivo in vitro também tendem a ser únicas. A capacidade de regeneração e crescimento in vitro parece estar associada não apenas ao genótipo, mas também à atividade fisiológica na planta-matriz, sob o controle de diversos fatores endógenos (SILVA et al., 2012).

O tamanho do explante utilizado depende essencialmente do objetivo da micropropagação. Caso se pretenda eliminar algum microrganismo sistêmico como vírus, bactéria ou micoplasma, deve-se considerar, evidentemente, que quanto menor o explante isolado, ou quanto mais isolado este tecido estiver das regiões subjacentes vascularizadas, maiores serão as chances de sucesso (GRATTAPAGLIA e MACHADO et al., 1998).

O principal objetivo da fase de multiplicação é produzir o maior número de plantas possível, no menor espaço de tempo, alguns aspectos qualitativos importantes devem ser considerados. Não basta conseguir altas taxas de multiplicação em alguns explantes, o importante é obter uma taxa média satisfatório com o mínimo de variação de explante para explante (LEE et al., 1984).

O verdadeiro desafio, está no material vegetal e na sua manipulação antes de excisar o explante inicial, e em todos os passos até o transplantio da planta produzida. Esta manipulação inclui: manejo da planta-matriz, as características do explante utilizado, o procedimento de sub cultivo adotado, as condições ambientais e micro ambientais dentro do frasco de cultura e o transplantio.

Depois de isolados e inoculados em meio de cultura apropriado, os meristemas apicais de cana-de-açúcar se desenvolvem dando origem às plântulas que serão então multiplicadas, enraizadas e aclimatizadas (LIMA et al., 2001).

A justificativa é estabelecer um protocolo de micropropagação de cana-de-açúcar. A técnica de propagação desta espécie por meio de meristema apical é considerada uma alternativa vantajosa para a multiplicação de diversas variedades, devido à economia de tempo em relação às técnicas convencionais, além da obtenção de mudas de excelente qualidade fitossanitária e geneticamente idênticas ao material de origem (VIEIRA et al., 2009).

O problema mais recorrente **é as** doenças da cana que são de caráter sistêmico, portanto facilmente disseminadas pelas canas usadas nos plantios. A importância das doenças é de difícil quantificação, pela diversidade das cultivares e das condições ambientais em que são exploradas. Como uma doença é produto da interação patógeno-hospedeiro-ambiente, seus efeitos podem variar de um local para outro. Outro fator importante é a baixa quantidade de matéria propagativo com qualidade fitossanitária, para a ampliação da produção.

Dessa forma este trabalho teve como objetivo testar três protocolos de assepsia em meristema apical de cana-de-açúcar a fim de obter plantas micropropagadas.

## 2 I MATERIAIS E MÉTODOS

Para todas os protocolos foram coletados colmos em uma área rural no município de Mercedes-PR e destes foram retirados os palmitos com aproximadamente 5 cm de comprimento, depois foram cortados em cubinhos. O corte e a desinfestação foram realizados fora da câmara de fluxo, os outros processos foram realizados dentro.

## PROTOCOLO I

Os explantes receberam a desinfestação com um tríplice lavagem em água destilada, depois foi realizado a imersão em álcool 70% por 2 minutos, depois em hipoclorito de sódio (2%) por 15 minutos. Posteriormente, o meristema foi imerso por 5 minutos na solução de ácido cítrico a 1,5%, para evitar sua oxidação. Os explantes foram transferidos e inoculados para frascos de vidro autoclavados e esterilizados contendo meio de cultura MS+carvão, onde recebeu quatro meristemas do mesmo genótipo em sua superfície, depois foi vedado com papel alumínio e plástico filme, após todo o processo foram mantidos no escuro por 15 dias (DUTRA et a., 2011).

## PROTOCOLO II

Os explantes receberam a desinfestação com álcool, foram lavados em álcool 70% durante 30 segundos, por três vezes sem reutilização das soluções, depois fui imerso em água destilada. Depois em hipoclorito de sódio (2%) por 15 minutos, depois no ácido cítrico 1,5% por 3 min.

Após a retirada do excesso de solução de ácido cítrico dos cubos meristemáticos. Os explantes foram transferidos e inoculados para frascos de vidro autoclavados e esterilizados contendo meio de cultura MS+carvão, onde recebeu quatro meristemas do mesmo genótipo em sua superfície, depois foi vedado com papel alumínio e plástico filme, após de todo o processo foram mantidos no escuro por 15 dias (MELO et al.,2020).

## PROTOCOLO III

Os explantes receberam tríplice lavagem em água destilada para a desinfestação, depois foram mergulhados em álcool 70% por 1 minuto, depois foi previamente mergulhado em solução de hipoclorito de sódio (2%) por 15 minutos.

Na desinfestação os explantes foram imersos por 15 minutos no fungicida mancozeb, foi usado 2,5g e diluído em 30ml de água. Os explantes foram transferidos e inoculados para frascos de vidro autoclavados e esterilizados contendo meio de cultura MS+carvão, onde recebeu quatro meristemas do mesmo genótipo em sua superfície, depois foi vedado com papel alumínio e plástico filme, após de todo o processo foram mantidos no escuro por 15 dias (FARIA et al ., 2010).

Figura 1- Frascos contendo meristemas de cana-de-açúcar inoculados em meio de cultura MS (Murashige & Skoog,1962), em sala de crescimento do laboratório de Biotecnologia, PUC- Campus Toledo, 2021. Fonte: as autoras,2021.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após 15 dias foi realizada a avaliação dos protocolos, verificando a oxidação, a presença de fungos, bactérias e também os explantes sadios conforme tabela 1.

| PROTOCOLO | % SADIOS | % CONTAMINAÇÃO | | %OXIDAÇÃO | CONTAMINAÇÃO POR 2 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | FÚNGICA | BACTERIANA | | |
| 1 | 10 | 20 | 0 | 50 | BACTERIA + OXIDAÇÃO 20 |
| 2 | 40 | 20 | 10 | 10 | FUNGO + OXIDAÇÃO 10<br>BACTERIA + OXIDAÇÃO 10 |
| 3 | 20 | 10 | 30 | 40 | |

Tabela 1- Porcentagem de explantes de cana-de-açúcar sadios, contaminados (fungos ou bactérias) e oxidados submetidos a três protocolos de assepsia. Toledo, 2021.

O maior problema foi a contaminação dos explantes, devido ao manuseio da planta no campo. O instrumento que foi utilizado para cortar a cana mesmo limpo no álcool, pode estar contaminado e no laboratório o bisturi mesmo sendo novo também pode estar contaminado e o manuseio incorreto do explante na câmara de fluxo também pode causar esse problema. Mesmo com a desinfestação dos protocolos, todas os protocolos tiveram oxidação, o que teve o melhor resultado nesse aspecto foi o protocolo 2.

Teve também a contaminação fúngica e bacteriana devido ao material utilizado, que provavelmente veio do campo com essa contaminação. O protocolo que teve o melhor resultado nesse aspecto foi o protocolo 3, devido ao uso do fungicida Mancozeb no procedimento.

Tivemos o maior cuidado no transporte e na execução dos protocolos. Mas o sucesso do cultivo in vitro e da introdução de um determinado genótipo nos programas de melhoramento utilizando a seleção in vitro, depende das condições de cultivo do meio de cultura, do estado fisiológico da planta mãe de onde é retirado o explante e, sobretudo, da capacidade do genótipo doador do explante de induzir calos embriogênicos e de sua posterior regeneração em plantas. A fonte de carbono adicionada ao meio de cultura influí significativamente o desempenho do cultivo, devido aos seus efeitos sobre o aporte de energia para o explante e a manutenção do potencial osmótico do meio (RIBEIRO et al.,2015).

Mesmo sendo um material de difícil manuseio, de fácil oxidação e com problemas com bactérias e fungos, tivemos também resultados positivos com explantes sadios que foram colocados na luz para o seu desenvolvimento. O tratamento que obteve o melhor resultados foi o 2.

Protocolo 1

Protocolo 2

Protocolo 3

Figura 2: Imagens de frascos contendo meristemas de cana-de-açúcar submetidos a três protocolos de assepsia. Toledo, 2021. Fonte: as autoras, 2021.

## 4 I CONCLUSÃO

O protocolo II no qual o usou a desinfestação com álcool 70% durante 30 segundos, por três vezes sem reutilização das soluções promoveu melhor resultado para a descontaminação de explantes de cana-de-açúcar. Porém, 40% de explantes sadios pode ser considerado um valor baixo, com isso novos testes deverão ser realizados para aumentar a porcentagem de explantes sadios.

## REFERÊNCIAS

CIDADE, D. A. de P; GARCIA, R. O.; DUARTE, A. C.; SACHETTO-MARTINS, G.; MANSUR, E. Morfogênese in vitro de variedades brasileiras de cana-de-açúcar. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 41, n. 3, p. 385-391, mar. 2006.

DUTRA, L, F. Protocolo de Micropropagação de Cana-de-açúcar. EMBRAPA Pelotas, RS. Dezembro, 2011. Acesso em: 12 de novembro de 2021. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/67353/1/Circular-128.pdf

FARIA, P, R. Micropropagação de variedades de cana-de-açúcar. Instituto de Ciências Biológicas – ICB, 2010. Acesso em: 12 de novembro de 2021.

Disponível em: https://projetos.extras.ufg.br/conpeex/2011/mestrado/mestrado-paulo-roberto.pdf

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, A. J. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação de plantas. Brasília: Embrapa – SPI / CNPH, 1998. v.1, p.183-260.

LIMA, M. A. C; GARCIA, R. O.; MARTINS, G. S.; MANSUR, E. Morfogênese in vitro e susceptibilidade de calos de variedades nacionais de cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.) a agentes seletivos utilizados em sistemas de transformação genética. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 73-77, mar. 2001.

LEE, T. S. G.; BACCHI, O. O. S. Improved rooting of differentiated shoots from sugarcane callus tissue, Turrialba, v. 34, n.4, p. 481-484, 1984.

MELO, B, L. Regeneração e Multiplicação in vitro de células meristemáticas de cana-de-açúcar. BRD. COMPLETA.vol.10, n.01, jan.jun-2020

OLIVEIRA, A. L. B.; FERREIRA, L. T.; HERCULANO, L.; OLIVEIRA, R. A.; PEREIRA, J. A. F.; CAMARA, T. R. Ação do hipoclorito na assepsia de explantes de cana-de-açúcar para embriogênese somática. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EX TENSÃO DA UFRPE ,10., 2010, Recife. Anais... Recife: Editora da UFRPE, 2010. JEPEX. R0720-1.

RIBEIRO, M.F.; RITTERBUSCH, C.W.; BIANCHI, V.J.; PETERS, J.A. Fontes de carbono na multiplicação in vitro de porta-enxertos de marmeleiro 'MC' e 'Adams'. Plant Cell Culture & Micropropagation, v.11, n.2, p.54-61, 2015.

SILVA, M. I. Embriogênese somática indireta de duas variedades RB de cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo – AL, 86p, 2012.

VIEIRA, R. A.; SILVA, C. M.; SOUTO, E. R.; HATA, F. T.; MACHADO, M. F. P. S.; MARCUZ, F. S. Diferentes concentrações de 6-Benzilaminopurina e cinetina na micropropagação in vitro de variedades RB867515 e RB855156 de cana-de-açúcar. Campo Digital, Campo Mourão, v. 4, n. 1, p. 122-126, 2009.

# CAPÍTULO 18

# SISTEMA DE TECNOLOGIA DE INTERNET DAS COISAS E COMPUTAÇÃO EM NUVEM PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE DE ÁREAS AGRÍCOLAS

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Mateus Rodrigues de Barros**
https://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K1702735Y6

**Antonio Newton Licciardi Jr**
http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4782606D9

Artigo do Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Engenharia Elétrica, EE, UPM, São Paulo, 2021.

**RESUMO**: Ao longo dos anos a agricultura tem sido parte fundamental da composição do produto interno bruto do Brasil. Devido a transformação digital, é esperado que haja um forte crescimento tecnológico neste seguimento. A internet das coisas ou *IoT* tem o potencial de auxiliar este processo através do monitoramento dos dados físicos permitindo a prática da agricultura de precisão, entretanto os dispositivos *IoT* possuem a característica de baixa capacidade de processamento de dados. A Computação em nuvem possui capacidade de processamento virtualmente ilimitada. A integração do *IoT* ao *Cloud Computing* constitui uma ferramenta versátil e importante para o crescimento do setor agrícola Brasileiro. Este trabalho enfoca o desenvolvimento, projeto e otimização de um sistema *IoT* e computação em nuvem para monitoração de plantações de pequenos e médios agricultores. Evidencia-se todos os aspectos de ferramentas de desenvolvimento usadas, custos e análise de desempenho, que viabilizam os corretos critérios de decisão das potenciais abordagens.

**PALAVRAS-CHAVE**: *IoT*, *Cloud Computing*, Agricultura, *LPWAN,* Sigfox, *MQTTS*, *HTTPS.*

## SYSTEM USING INTERNET OF THINGS AND CLOUD COMPUTING TO INCREASE THE PRODUCTIVITY AGRICULTURA AREAS

**ABSTRACT**: Over the years, the agriculture has been a fundamental part of the composition of Brazil's gross domestic product. Due to the digital transformation, it is expected that there will be strong technological growth in this segment. The Internet of Things or IoT has the potential to help this process through the monitoring of physical data allowing the practice of precision agriculture, however IoT devices have the characteristic of low

data processing capacity. Cloud computing has virtually unlimited processing power. The integration of IoT to Cloud Computing is a versatile and important tool for the growth of the Brazilian agricultural sector. This work focuses on the development, design and optimization of an IoT and cloud computing system for monitoring small and medium farmers' plantations. It highlights all aspects of development tools used, costs and performance analysis, which enable the correct decision criteria for potential approaches.
**KEYWORDS**: IoT, Cloud Computing, Agricultura, LPWAN, Sigfox, Lorawan, MQTTS, HTTPS.

## 1 I INTRODUÇÃO

O *Cloud Computing* ou Computação em Nuvem, e o *IoT* (*Internet of Things)*, Internet das coisas), são dois sistemas independentes entre si, que quando combinados transformam-se em uma importante ferramenta para o futuro (SADEEQ et al., 2021).

A Internet das Coisas pode ser definida como uma rede de objetos sejam, físicos ou lógicos, que conseguem interagir e se comunicar entre si através da internet. O termo "coisas" compõem o a sigla *IoT*, devido aos diversos objetos e dispositivos que podem integrar a rede, como exemplo podemos citar sensores, carros, dispositivos residenciais (MASCARENHAS et al., 2021).

*Cloud Computing* (*CC*) é definido da seguinte forma (PIERLEONI et al., 2019, p.1):

> *CC* é um modelo que permite o acesso a um conjunto de recursos de computação compartilhados e configuráveis (por exemplo, redes, servidores, estruturas de armazenamento, aplicativos) oferecidos como serviços. Esses recursos podem ser rapidamente solicitados, gerenciados e usados em um modelo de repartição, de forma que o usuário pague pela quantidade de uso efetivo de um recurso. O *CC* também é independente de localização, permitindo o acesso do usuário aos serviços em nuvem de qualquer local e com qualquer dispositivo por meio da conexão com a internet.

O estudo do *McKinsey Global Institute* solicitado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) em parceira com o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações e Comunicações (MCTIC), a respeito do uso do *IoT*, estima que no Brasil o impacto econômico chegue à 200 bilhões de dólares até 2025 (MCKINSEY, 2017).

Para 41% dos participantes do estudo, o foco principal de *IoT* deve se concentrar em como aumentar a produtividade agrícola e para 24% o crescimento econômico (MCKINSEY, 2017). Neste estudo foram apontadas as verticais para utilização de aplicações *IoT* no Brasil.

A vertical Rural recebeu nota 7.4 para o critério de Competitividade do Brasil no ambiente de aplicação de *IoT*, e nota 10 para o critério de Facilidade de desenvolver Inovação e Ambiente de negócios.

Segundo o ranking do Observatório de Complexidade Econômica do *MIT* (*Massachusetts Institute of Technology*), no ano de 2019 o Brasil obteve cerca de US$ 230 bilhões de dólares americanos com exportações (MIT, 2021).

Os itens com maior parcela de contribuição para o valor obtido com exportações, foram a soja (11.4%), o milho (3.21%) e o café (2.05%) (MIT, 2021).

Dado a matriz de exportações do Brasil, desenvolver aplicações em setores nos quais é referência mundial, como agronegócio de fato torna-se estratégico.

Segundo projeções da Gartner consultoria, a expectativa é que o mercado mundial de serviço de *Cloud Computing* movimentará US$ 362,263 bilhões de dólares americanos em 2022 (GARTNER, 2020).

Com o contexto e dados apresentados, observa-se que o setor da Agricultura tem grande relevância para a economia do Brasil. Com alto potencial de crescimento produtivo e ambiente propício para desenvolvimento de inovações tecnológicas, o Brasil pode se beneficiar de soluções que integrem *Cloud Computing* e *IoT*.

O estudo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) destaca os maiores desafios para o setor de agricultura no Brasil, sendo eles a coleta e o processamento de dados sobre umidade, monitoramento do ar e luz solar (EMBRAPA, 2017 apud MCKINSEY, 2017).

Dado o nível limitado de processamento de um dispositivo *IoT* e a alta capacidade de processamento encontrada em *CC*, a integração entre as duas ferramentas se tornam estratégica (NGUYEN et al., 2020). A esta integração, este autor denomina *Cloud of Things,* Nuvem das coisas.

Em 2020, a EMBRAPA realizou uma pesquisa com mais de 750 participantes tais como produtores rurais, empresas e prestadores de serviço do ramo, para mapear o retrato da agricultura digital brasileira (EMBRAPA, 2020).

Segundo a pesquisa, para 40,9% dos produtores rurais a falta de conhecimento sobre quais as tecnologias mais apropriadas é uma dificuldade. Ainda, de acordo com o estudo, existe a visão de que essas novas tendencias são acessíveis para produtores de grande porte e alta capacidade de investimento.

### 1.1 Objetivo geral

Este trabalho compreende a análise das melhores soluções de *Cloud Computing* em termos de custo e usabilidade, e *IoT* em termos de disponibilidade e eficiência energética, que contribuam para a melhoria da produtividade das principais culturas agrícolas dos pequenos produtores do Brasil. Por principais culturas entenda as que compõem os itens de exportação relevantes: soja, milho e café (MIT, 2021).

### 1.2 Objetivos específicos

Para que o objetivo deste trabalho seja atingido é necessário o desenvolvimento dos seguintes objetivos específicos:

1 - Especificar quais são as melhores práticas de computação para área agrícola em termos de computação em nuvem e de borda.

2 - Dadas as dimensões e localização de uma propriedade agrícola, é importante determinar os dispositivos de telecomunicações que viabilizam a implementação de sensores e atuadores com ótima eficiência energética e baixo custo.

3 - Analisar e determinar quais são os engenhos necessários para fazer a interface e integração dos dispositivos com o ambiente de computação em nuvem.

4 - Desenvolvimento de um protótipo *IoT,* ou identificação no mercado de solução apropriada (custo, funcionalidade), com processamento em nuvem para validação das características e estimativas itens 1, 2 e 3.

## 2 | METODOLOGIA

A metodologia do trabalho está dividida em etapas que atendem os objetivos detalhados na Subseção 1.2.2. A seguir, estas são apresentadas.

Etapa 1- Entendimento das três maiores plataformas de *Cloud Computing* no Brasil, e suas soluções típicas de mercado *IoT*.

É realizado estudo das três maiores plataformas de *Cloud Computing* no Brasil, a saber: *Amazon Web Services*, *Microsoft Azure* e *Google Cloud Platform* (INFONOVA, 2021). Por meio de artigos científicos publicados, livros e blogs, é feita uma pesquisa documental, em busca do entendimento e da apresentação de como soluções típicas destas empresas e suas respectivas plataformas para o mercado de *IoT*. Além disto, como cada plataforma pode atender aos requisitos básicos de fazendas inteligentes tais como: custeio, capacidade de carga, facilidade de implementação, manutenção e operação de sistema. Para os pequenos agricultores, tem-se ainda os requisitos mínimos: intuitividade de uso, baixo custo operacional requerido sem perder confiabilidade e eficiência.

Após a identificação de quais soluções de plataformas atendem os requisitos, são feitas análises comparativas entre estes, para a identificação de qual solução poderia atender da melhor maneira, implementações de soluções *IoT*, para o pequeno produtor brasileiro.

Etapa 2 - Estudo de possíveis soluções de telecomunicações viáveis no Brasil de baixo consumo (*LPWAN*). Levantamento de sensores, atuadores, microcontroladores de baixo consumo energético.

Esta etapa consiste na pesquisa de informações, do estudo, entendimento e levantamento das características de operação de redes de telecomunicações de baixo consumo energético, disponíveis para implementações de dispositivos de *IoT*. O levantamento das informações é realizado por pesquisa na Internet, em materiais técnicos disponíveis em bases científicas como a do IEEE (Instituto de Engenheiros Elétricos e Eletrônicos) (2021). É realizado um mapeamento das redes viáveis e homologadas pela

ANATEL (Agência Nacional de Telecomunicações) (2021), cobertura do território, custos operacionais existentes, consumo de rádio transmissores e confiabilidade destes. Os custos, facilidade de aquisição de radiotransmissores para montagem de dispositivos *IoT* e de operação são levantados, estudados, descritos e classificados. Para tal pretende-se utilizar materiais disponíveis em bases da Internet, como a do IEEE (2021) e de fabricantes como o da Sigfox (2021).

O Arrolamento e estudo de sensores, usuais em aplicação de *IoT* para monitoração e suporte a agricultura (EMBRAPA, 2017), é realizado junto a empresas fabricantes ou de importação, com informações disponíveis na Internet, por exemplo a MOUSER (2021), ou através de contatos diretos com estes.

São ainda estudados os microcontroladores usuais para aplicação em *IoT* através de materiais científicos e técnicos disponíveis nas bases de consulta, estes últimos como GIALELIS et al. (2020). Dentro da disponibilidade de telecomunicações adotada para maior cobertura do território nacional, é determinado o microcontrolador viável, sendo ponderados custos de aquisição no Brasil, consumo energético e possibilidades de programação.

Etapa 3 – Interface e integração dos dispositivos com o ambiente de computação em nuvem.

A partir dos resultados obtidos nas Etapas 1 e 2, e fundamentado em artigos e coletâneas técnicas e científicas apresentadas na Seção 3, pretende-se entender e descrever a melhor arquitetura do ambiente que precisará ser implementada. Dois aspectos precisam ser atentados na etapa: a segurança das comunicações e, se necessário, os *gateways* com os dispositivos *IoT* em campo. Para o tratamento da segurança, são trabalhadas as soluções que preferencialmente respeitarem os princípios do *MQTT*, protocolo apresentado na Seção 3. O levantamento da infra de internet possível, pode ser identificado pelo endereço da localidade rural, utilizando-se de mapas do CGI, Comitê Gestor da Internet no Brasil, como o do SIMET (2021).

Etapa 4 - Desenvolvimento ou identificação no mercado de uma solução *IoT* com processamento em nuvem, apropriada para áreas agrícolas do Brasil

Esta etapa consiste no desenvolvimento ou identificação no mercado, de protótipo *IoT*, *gateway*, com processamento em nuvem para validação das métricas, características e estimativas trabalhados nas etapas metodológicas. O processamento do protótipo ou solução encontrada no mercado, deve utilizar a plataforma dos três maiores provedores de serviços de computação em nuvem no Brasil, solução de sensores e atuadores, microcontroladores e softwares de integração identificados/detalhados. O ensaio prático ou em laboratório permite validar as métricas e cálculos levantados nas demais etapas de estudo/projeto.

## 3 I REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Internet das Coisas

A Internet das Coisas ou *Internet of Things* (*IoT*) é um paradigma baseado na Internet e pode ser definida como uma rede de objetos sejam, físicos ou lógicos, que conseguem interagir e se comunicar entre si através da internet (MASCARENHAS et al., 2021).

Segundo a pesquisa realizada pela EMBRAPA, as áreas mais interessantes para o uso de novas tecnologias digitais são: planejamento das atividades, gestão da propriedade e controle de deficiências nutricionais do solo (GALINARI et al., 2021). Dentro dessas vertentes os dispositivos *IoTs*, tem o potencial de ajudar o agricultor.

### 3.2 Computação em Nuvem

Devido às limitações do *IoT*, e a capacidade virtualmente ilimitada de processamento e armazenamento do *Cloud Computing*, as integrações entre *CC* e dispositivos *IoT* constituem uma robusta ferramenta complementar entre si (PIERLEONI et al., 2019).

O termo Computação em Nuvem ou *Cloud Computing* se tornou popular a partir de 2006, após ser utilizado por Eric Shmidt, CEO da Google no ano em questão, em uma conferência para explicar como feito o gerenciamento dos data centers da empresa (DARWISH et al., 2017).

Em 2011 o Instituto Nacional de Normas e Tecnologia dos Estudos Unidos definiu *Cloud Computing* (NIST, 2011):

> A computação em nuvem é um modelo para permitir acesso onipresente, conveniente e sob demanda à rede a um pool compartilhado de recursos de computação configuráveis (por exemplo, redes, servidores, armazenamento, aplicativos e serviços) que podem ser rapidamente provisionados e liberados com mínimo esforço de gerenciamento ou interação com o provedor de serviços. Este modelo de nuvem é composto por cinco características essenciais, três modelos de serviço e quatro modelos de implantação.

### 3.3 Protocolo *MQTT*

Criado e desenvolvido pela IBM no final dos anos 90, o *MQTT* (*Message Queuing Telemetry Transport*), é um protocolo aberto de mensagens com suporte para realizar comunicação assíncrona (IBM, 2017).

O protocolo *MQTT* define duas entidades na rede: um *message broker* e os clientes. O *broker* é um servidor que recebe todas as mensagens dos clientes e, em seguida, distribui essas mensagens para os clientes de destino.

Conforme o trabalho de PIERLEONI et al., (2019), o *MQTT* obtém os melhores resultados em termos de atraso fim a fim e consumo de largura de banda.

Conforme Yuan (2017), o *MQTT* é um protocolo de rede flexível e leve. A característica de leveza, permite a implementação em hardware e redes de largura da banda limitada e de alta latência.

### 3.4 Protocolo *HTTPS*

O protocolo *HTTPS* (*Hypertext Transfer Protocol Secure*) é um protocolo de comunicação, projetado para manipulação de mensagens web de forma segura, que pode também ser utilizado nas redes de comunicação *IoT* (BALBINOT, 2019).

Fazendo uso do método de requisição e respostas e de métodos previamente definidos no protocolo, o cliente *HTTPS* realiza uma chamada e obtém um arquivo de resposta com o status de sucesso ou erro da chamada, bem como a resposta desejada no corpo da mensagem.

## 4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seguindo as etapas descritas na Seção 2, realizou-se as seguintes atividades:

### 4.1 Arquitetura idealizada para os ambientes em nuvem

Em conformidade com a etapa 1 descrita na metodologia, realizou-se o estudo documental das plataformas de *cloud* e identificação de quais soluções destas, atendem os requisitos mencionado.

Foi feita uma análise comparativa entre os recursos e serviços para a identificação de qual solução poderia atender da melhor maneira, implementações de soluções *IoT*, para o pequeno produtor brasileiro.

Para melhor entendimento foi proposto um sistema genérico para representação dos itens que compõem uma solução com uso de um *IoT* e integrado as *clouds*.

A Figura 1 exibe o referido sistema genérico.

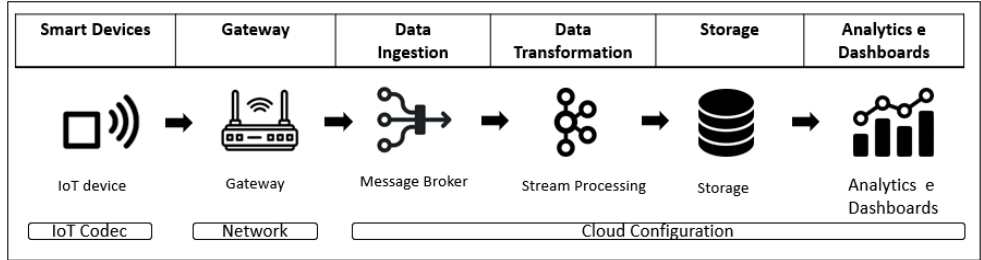



Figura 1 – Sistema Generalizado

Fonte: Próprio Autor

O Quadro 1 contém os serviços utilizados para o sistema genérico e sua respectiva descrição.

| **Serviço** | *Smart Devices* | *Gateway* | *Data Ingestion* | *Data Transformation* | *Storage* | *Analytics* e *Dashboards* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Descrição** | Dispositivos *IoT* | Comunicação entre ambientes | Serviço que recebe as mensagens | Orquestra os dados na infraestrutura | Armazena os dados | Análises e exibição de dados |

Quadro 1 – Descrição dos serviços do sistema generalizado

Fonte: Próprio autor

Elencou-se que os três provedores de serviços de *cloud* observados possuem soluções similares para o uso com ambientes de *IoT*.

O Quadro 2 contém as categorias de serviços similares oferecidos pelos provedores A*mazon Web Services, Microsoft Azure* e *Google Cloud Platform.*

| **Categoria do serviço** | **Tipo do serviço** | **Oferta *AWS*** | **Oferta *Microsoft Azure*** | **Oferta *GCP*** |
|---|---|---|---|---|
| Análise de dados | *Business Intelligence* | *Amazon QuickSight* | *Microsoft Power BI* | *Looker* |
| Internet das Coisas (*IoT*) | Plataforma de *IoT* | *AWS IoT Core* | *Hub IoT do Azure* | *Cloud IoT* |
| Banco de dados | Armazenamento de dados | *Amazon DynamoDB* | *Azure Cosmos DB* | *Datastore* |
| Análise de dados | Processamento de código aberto | *Amazon S3* | *Azure Data Lake* | *Dataproc* |
| Análise de dados | Orquestração de fluxo de dados | *AWS IoT Analytics* | *Azure Stream Analytics* | *Dataflow* |
| *Compute* | *Serveless* | *AWS Lambda* | *Azure Functions* | *Cloud Functions* |

Quadro 2 – Serviços Similares oferecidos pelos provedores de *Cloud*

Fonte: Modificado de GOOGLE CLOUD PLATFORM (2021)

Observa-se na tabela 2 a categoria e tipo dos serviços entregues pelas três plataformas bem como os serviços equivalentes entre si, do ponto de vista conceitual.

## 4.2 Tecnologias *LPWAN*

Referente a etapa 2 da Subseção 2, conforme o estudo realizado das principais tecnologias *LPWAN* destacam-se a rede Sigfox e Lorawan (MEKKI, K. et al., 2019).

O estudo realizado pela Teleco Inteligência em Telecomunicações (TELECO, 2021), mostra a evolução dos municípios e porcentagem de população cobertos pelas tecnologias *LPWAN* no Brasil em setembro de 2021.

Segundo o estudo, a rede Sigfox possui cobertura de 492 municípios, cobertura esta que abrange 51.3% da população, enquanto a rede Lorawan possui cobertura de 262

municípios, cobertura esta que abrange 50.0% da população nacional.

O Quadro 3 descreve as características de operação das soluções *LPWAN* observadas pelo autor.

| | **Sigfox** | **Lorawan** |
|---|---|---|
| **Modulação** | **BPSK** | **CSS** |
| **Frequência** | Bandas ISM não licenciadas (868 MHz na Europa, 915 MHz na América do Norte e 433 MHz na Ásia) | Bandas ISM não licenciadas (868 MHz na Europa, 915 MHz na América do Norte e 433 MHz na Ásia) |
| **Largura de banda** | 100 Hz | 250 kHz e 125 kHz |
| **Taxa máxima de dados** | 100 bps | 50 kbps |
| **Bidirecional** | Limitada / Half-duplex | Sim / Half-duplex |
| **Máximo de mensagens/dia** | 140 (UL), 4 (DL) | Ilimitado |
| **Comprimento máximo do payload** | 12 bytes (UL), 8 bytes (DL) | 243 bytes |
| **Cobertura da rede** | 10 km (urbano), 40 km (rural) | 5 km (urbano), 20 km (rural) |
| **Imunidade a interferências** | Muito Alta | Muito Alta |
| **Autenticação e criptografia** | Não suportado | SIM (AES 128b) |
| **Taxa de dados adaptável** | Não | Sim |
| ***Handover*** | Os dispositivos finais não se unem a uma única estação base | Os dispositivos finais não se unem a uma única estação base |
| **Geo Localização** | Sim (RSSI) | Sim (TDOA) |
| **Permitir rede privada** | Não | Sim |
| **Normas** | A empresa Sigfox está colaborando com a ETSI na padronização da rede baseada em Sigfox | LoRa-Alliance |

Quadro 3 – Comparação serviços *LPWAN*

Fonte: MEKKI, K. et al. (2019)

Dentre as duas soluções optou-se pelo uso da rede Sigfox devido ao maior raio de cobertura no ambiente rural, variando de 10 a 40 km, *backend* robusto que possibilita a integração do dispositivo com o ambiente de nuvem em geral sem a necessidade de uso de um *gateway* físico.

A tecnologia da rede Sigfox pode ser descrita como um protocolo de rede voltado para aplicações *IoT* sem a utilização de fios e trabalhando em baixa potência (DATEM, 2021).

Algumas das vantagens da utilização dessa tecnologia são: baixo consumo de energia e preço padronizado mundialmente - a assinatura anual para envio de duas mensagens por dia por dispositivo é de US$0,50 (NOVIDA, 2019).

## 4.3 Gateway

A função de um *gateway IoT* é realizar a comunicação entre os dispositivos e assim formar uma rede, para compartilhamento de recursos, informações e tornando possível a intercomunicação dos equipamentos que possuam diferentes protocolos de comunicação (RAMÍREZ et al., 2019). O *gateway* é a ponte que realiza o fluxo de dados entre os sensores sem fio e redes de comunicações locais ou Internet (JUNIOR et al., 2018). Um possível cenário de uso para um *gateway* físico no contexto deste trabalho, seria a utilização de dispositivos Sigfox em ambientes fora da zona de cobertura informada no site. Através do uso do *gateway* é possível criar um repetidor da rede para a cobertura desta localidade. Para a rede Sigfox existem soluções prontas disponíveis para a implementação dos mesmos, como descrito em MATURIX (2021).

## 4.4 Protótipo *IoT*

Alinhado a etapa 4 da Subseção 2, após conclusão das pesquisas para desenvolvimento ou identificação no mercado de um protótipo *IoT*, optou-se pela aquisição e utilização de produto encontrado no mercado. Tal produto possuí o melhor custo encontrado no território nacional, permite desenvolvimentos em diversas plataformas e com diversos sensores e tem as características técnicas descritas a seguir.

### *4.4.1 Características do protótipo utilizado*

A solução para uso neste trabalho foi o devkit de desenvolvimento Sigfox com módulo Wisol Thinxtra, ou Sigfox Developer Xkit (THINXTRA, 2021).

O kit de desenvolvimento é composto pelos seguintes itens:

a- *Shield* suportando as redes Sigfox RCZ2 (Brasil, EUA e México);

b- Placa Arduino uno r3.

c- Sensores de temperatura, pressão, luminosidade, magnético (*reed switch*) e acelerômetro de 3 eixos;

d- Licença de 1 ano de conectividade Sigfox, pacote Sigfox Platinum, 140 mensagens de upload e 4 de download.

A placa Arduino uno r3 que acompanha o devkit está pré-carregada com uma aplicação demo que envia informação do sensor de temperatura, tensão de saída do sensor foto-elétrico, valor da pressão e acelerômetro.

Estes dados são enviados nas seguintes condições:

a- A cada 10 minutos;

b- Caso o botão SW1 do módulo Sigfox seja pressionado;

c- Se houver proximidade de um imã ao sensor magnético (*reed switch*).

Visando o desenvolvimento do protótipo para o ambiente agrícola, foi acrescentado o sensor de umidade DHT 22 e o código original pré-carregado ao devkit foi modificado de acordo.

Uma bateria de Lítio Ion de 4.8 Ah para uso com o *IoT* foi usada para o fornecimento de energia ao dispositivo.

Para acomodação do *hardware* do *IoT* foi criado um case físico e impresso em 3D no laboratório da Escola de Engenharia da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

Na Figura 2, observa-se a lista dos materiais utilizados para desenvolvimento do projeto

Figura 2 – Lista de Materiais Utilizados

Fonte: Próprio Autor

Na Figura 3, temos uma fotografia do hardware projeto finalizado.

Figura 3 – Protótipo

Fonte: Próprio Autor

## 4.5 Decodificação dos dados

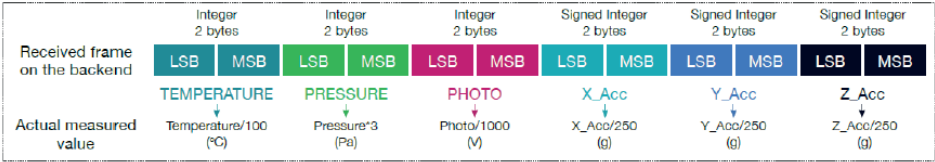
Os dados medidos pelos sensores do devkit são exibidos na base hexadecimal (Sigfox, 2021).

Para leitura mais amigável dos dados, é necessário realizar a decodificação do *payload* da base hexadecimal para base decimal e adequação da unidade para o sistema

internacional (S.I).

Conforme a documentação do devkit informa, a decodificação do *payload* pode ser realizada manualmente (THINXTRA, 2021).

Na Figura 4, apresenta-se o processo de decodificação manual.

A mensagem é enviada com 12 bytes, conforme padrão Sigfox. Ela é enviada em hexadecimal conforme estrutura abaixo:

Exemplo de mensagem recebida: f7096679b3050c009900c100
Para facilitiar podemos separar os caracteres: f7 09 66 79 b3 05 0c 00 99 00 c1 00

**Extração dos dados:**

**Temperatura:**

LSB (less significative bit = bit menos significativo) = f7
MSB (most significative bit = bit mais significativo) = 09
Temperature em hexadecimal = 09f7
Conversão de hexadecimal para decimal = $0 \times 16^3 + 9 \times 16^2 + 15 \times 16^1 + 7 \times 16^0 = 2551$
Conforme a estrutura mencionada este valor deve ser divido por 100 para resultar na temperatura em °C, logo a temperatura é 25,51°C

Figura 4 – Decodificação manual

Fonte: THINXTRA (2021)

Para realização da decodificação do *payload* há a possibilidade da criação de uma função em determinada linguagem de programação para operação em serviços *serverless* tais como *AWS* Lambda, *Microsoft Azure Functions* e *GCP Functions* (GIL, 2021).

Foram desenvolvidas funções para este fim e o código encontra-se no repositório do Github (DOI:10.5281/zenodo.5648126) (RODRIGUES, 2021).

Visando tornar simples a implementação para usuário com menor nível técnico, foi feita uma pesquisa de quais ferramentas teriam a capacidade de facilitar o processo de decodificação.

Após pesquisa documental com base em fóruns, foi encontrada uma aplicação *de SaaS* - *software* como serviço chamada Bitdecoder fornecida pela empresa de monitoração de dados, *Paessler* (PAESSLER BITDECODER, 2021). A versão utilizada no corrente trabalho é a beta sem custos.

Com o uso da ferramenta destacada, pode-se realizar a decodificação dos dados advindos diretamente do ambiente Sigfox e realizar a entrega destes dados, já convertidos, para a nuvem de interesse.

De acordo como o manual da ferramenta, o processo de decodificação dentro da plataforma pode ser realizado via código ou de forma visual (PAESSLER BITDECODER,

2021).

Dentro da plataforma *Paessler Bitdecoder* existe a possibilidade de integração direta com o ambiente *AWS IoT Core* e *Microsoft IoT Hub* (PAESSLER BITDECODER, 2021).

Para a utilização das demais nuvens, tais como *GCP*, há a possibilidade de utilização do *MQTT Broker*.

Na Figura 5, há a representação do funcionamento da ferramenta destacada, com a chegada dos dados vindos da Sigfox *Cloud*, conversão do pacote e entrega dos dados as *clouds* requeridas.

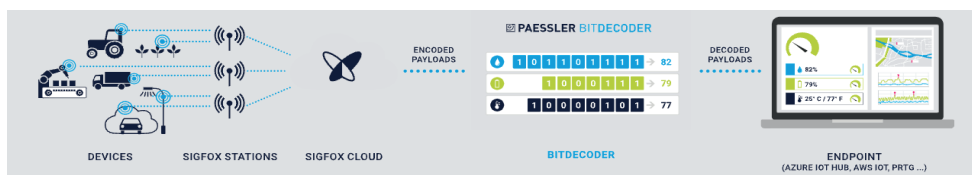



Figura 5 – Funcionamento *Paessler Bitdecoder*

Fonte: PAESSLER BITDECODER (2021)

## 4.6 Ambiente de *Cloud Computing*

Cada ambiente de computação em nuvem e seus respectivos cenários de operação são descritos a seguir.

### *4.6.1 Sigfox Cloud*

Os dados coletados pelos sensores, são enviados para estações rádio base da rede Sigfox e após esse processo, é feito o *upload* dos dados para a nuvem da rede Sigfox e após essa etapa pode-se fazer a integração com as *clouds* (LAVRIC et al., 2019).

A Sigfox *Cloud* pode encaminhar automaticamente para outras *clouds*, usando serviços de retorno de chamadas, denominado *callbacks* (SIGFOX, 2021). Este serviço utiliza protocolo *HTTPS*.

A Figura 6 ilustra a arquitetura da rede Sigfox.

Figura 6 – *Sigfox Network Architecture*

Fonte: SIGFOX (2021)

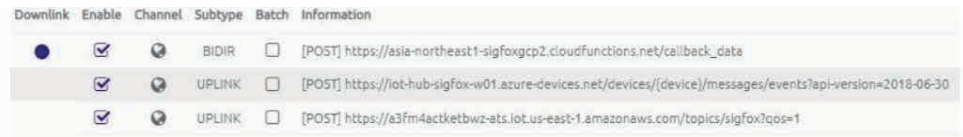
É possível a configuração de *callbacks* para *AWS* e *AZURE* de forma simplificada e

a criação de *callbacks* customizadas para integração com demais nuvens (SIGFOX, 2021).

## 4.7 Integração com nuvens públicas

Com o objetivo de simular o uso da integração com nuvens públicas, dois cenários foram elaborados: um obedecendo as recomendações básicas do provedor e outro de segurança, incrementada através do protocolo *MQTTS* e aperfeiçoamento do *dashboard*.

### *4.7.1 Primeiro Cenário*

Utilizando *callbacks* nativas e protocolo *HTTPS*: os dados lidos pelos sensores são enviados do Sigfox *cloud* para as nuvens *AWS*, *Microsoft Azure* e *GCP*.

Com a chegada do dado ao ambiente de nuvem, este é armazenado ainda em formato original (hexadecimal), sendo o cenário mais simples.

A integração com *AWS* e *AZURE* é realizada através de *wizard* (assistente) presente no *backend* Sigfox *cloud.*

Já a integração com o *GCP* é realizada através de *callback* desenvolvida para conexão do *backend* Sigfox *cloud*.

Os provedores dos ambientes *AWS*, *AZURE* e *GCP* possuem documentação que auxilia no processo descrito (GARCIA, 2017; LIU, 2018; LEPISTO, 2020a, 2020b).

Na Figura 7, observam-se as *callbacks* utilizadas para este trabalho.

Figura 7 – *Callbacks*

Fonte: Próprio Autor

### *4.7.2 Segundo Cenário*

Os dados lidos pelos sensores do *IoT* são enviados do *backend* Sigfox para a ferramenta *Paessler Bitdecoder* e protocolo *MQTTS*. Após a conversão, o payload com dados convertidos é encaminhado aos serviços de *endpoint* das nuvens *AWS* e *Microsoft Azure*. Como *endpoins* entenda os serviços de *Message broker* cuja representação gráfica encontra-se na Figura 1.

Para o *Google Cloud Platform* optou-se pelo não desenvolvimento do 2° cenário no trabalho em função de complexidades de conexão para o desenvolvimento de um *gateway*.

### *4.7.3 Arquitetura de integração.*

Nas Figura 8, observa-se os elementos pertinentes as arquiteturas de integração

entre o backend Sigfox *cloud* e as nuvens *AWS*, *Microsoft Azure* e *GCP* para o primeiro cenário, no qual os dados trafegam por protocolo *HTTPS* e são armazenados sem decodificação.

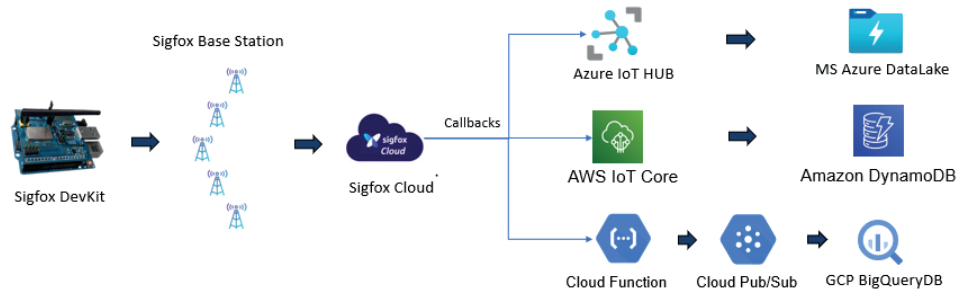



Figura 8 – Arquitetura de integração Sigfox e *Clouds* para 1° cenário

Fonte: Próprio Autor

Na Figura 9 observam-se os elementos pertinentes as arquiteturas de integração entre o *backend* Sigfox *cloud* e as nuvens *AWS*, *Microsoft Azure* no segundo cenário. Neste cenário os dados trafegam por protocolo *MQTTS*, são decodificados pelo *Paessler Bitdecoder,* armazenados em bancos de dados e posteriormente exibidos em *dashboards*,

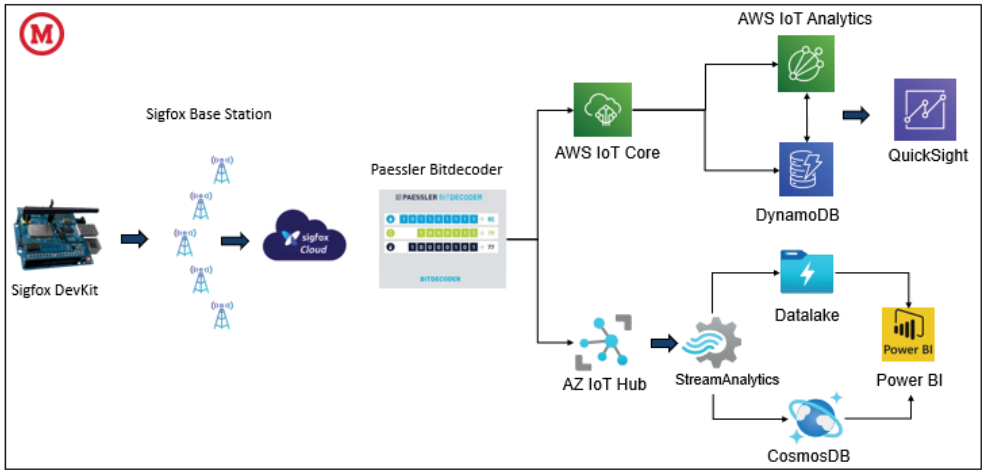



Figura 9 – Arquitetura do segundo cenário no ambiente *AWS* e *AZURE* respectivamente

Fonte: Próprio Autor

## 4.8 Funcionamento do sistema

Como o funcionamento como um todo depende de inúmeras camadas de aplicação, além da presente Subseção, um vídeo explicativo é proposto em RODRIGUES (2021).

A fim de documentar o processo de fluxo de dado do Cenário 1, as etapas relevantes são apresentadas nas Figuras 10, 11, 12 e 13. A Figura 10, contém um exemplo de

mensagem sequencial apresentada no ambiente Sigfox *cloud*.

2021-10-24 21:49:13 2002 070a6e791101020000005200

Figura 10 – Mensagem 2002 no ambiente Sigfox Cloud

Fonte: Próprio Autor

A Figura 11 exibe um registro do banco de dados *DynamoDB*, tal qual é apresentado na interface do ambiente *AWS*. Pode-se observar informações do registro como data, número sequência da mensagem e um número hexadecimal que representa os valores medidos pelos sensores do dispositivo e transmitidos a nuvem.

Figura 11 – *Amazon DynamoDB Original Data*

Fonte: Próprio Autor

A Figura 12 contém a imagem de um registro do banco de dados *CosmosDB*, similar a apresentação na interface do ambiente *Microsoft Azure.* A direita pode-se observar os metadados e as informações de um registro que foi acessado no dia 25/10/2021.

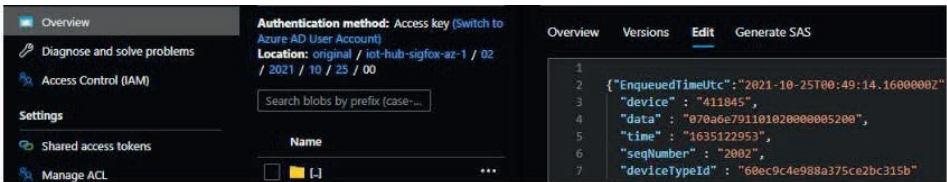



Figura 12 – *Microsoft Azure Datalake*

Fonte: Próprio Autor

Na Figura 13 existe um *print screen* de tela com informações de do *payload* carregado no banco de dados *BigQueryDB*, semelhante a visualização na interface do ambiente *Google Cloud Platform*.

Figura 13 - *Google BigQuery*

Fonte: Próprio Autor

Com a finalidade de documentar o processo de fluxo de dados do cenário 2 de acordo com a Subseção 4.7.2.

Na Figura 14, a mensagem de número sequencial 2034, é apresentada no ambiente *Sigfox.*

2021-10-25 19:03:43 2034 630a4b793d01020001005200

Figura 14 – Mensagem 2034 no ambiente Sigfox *cloud*

Fonte: Próprio Autor

Já na Figura 15, observa-se um sumário das integrações realizadas entre a ferramenta *Paessler Bitdecoder* e os *endpoints AWS IoT Core* e *Microsoft IoT Hub.*

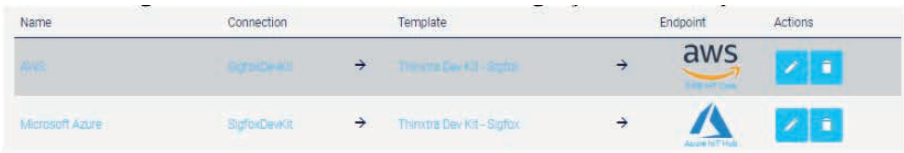



Figura 15 – *Paessler Bitdecoder* integrações com *endpoints*

Fonte: Próprio Autor

A seguir na Figura 16, apresenta-se a mensagem 2034 armazenada no banco de dados *AWS DynamoDB* após o processo de decodificação. Pode-se observar os valores de temperatura, pressão e umidade de um pacote já decodificados corretamente usando a ferramenta.

Figura 16 – *Amazon DynamoDB Converted Data*

Fonte: Próprio Autor

Os dados armazenados no banco de dados são apresentados nas diversas ferramentas através de dashboards criados, o que facilita a interpretação pelo usuário, e trabalhas as questões de IHM, ou seja, a interface homem máquina.

A cópia de uma tela de um *dashboard* montado em ambiente *AWS* é exibida na Figura 17.

Figura 17 – *AWS Quicksight* com os dashboards dos dados

Fonte: Próprio Autor

Na Figura 18, observa-se a mensagem 2034 armazenada no outro ambiente de *cloud* elaborado no *Microsoft Azure* com o registro no *CosmosDB* após o processo de decodificação semelhante ao apresentado da Figura 19.

Figura 18 – *Microsoft CosmosDB Converted Data*

Fonte: Próprio Autor

Um *print screen* de uma tela de um dashboard montado em ambiente *Microsoft Azure* é exibida na Figura 19.

Figura 19 – *Dashboards* dos dados no *Microsoft Power BI*

Fonte: Próprio Autor

## 4.9 Tempo de computação em nuvem

A corrente Subseção destaca as métricas de tempo observadas no corrente trabalho.

### *4.9.1 Tempo no cenário 1*

Utilizando as ferramentas que registram os logs de serviços de cada plataforma de *cloud*, foram observadas as seguintes métricas quanto ao tempo de recepção dos dados advindos do Sigfox *cloud* e posteriormente armazenamento no banco de dados.

As ferramentas de registro de logs utilizadas são as disponíveis nos devidos sistemas, a saber: *AWS CloudWatch, Microsoft Azure Monitor* e *Google Cloud Log.*

O Quadro 4, contém os tempos mensurados pelas aplicações, desde a chegada

do *payload* ao ambiente de nuvem e seu armazenamento no banco de dados de cada fornecedor de serviços de *cloud* para os 2 cenários propostos.

| Tempo em *Cloud* (ms) | | |
|---|---|---|
| | 1° cenário | 2° cenário |
| *Amazon Web Services* | 195 | 193 |
| *Microsoft Azure* | 213 | 548 |
| *Google Cloud Platform* | 508 | X |

Quadro 4 – Descrição dos serviços

Fonte: Próprio Autor

Pode-se observar que o ambiente *AWS* é 2,5 mais rápido nas recepções para o cenário 2 do que o ambiente *AZURE*. Já para o cenário 1, o ambiente do *AWS* e *AZURE* possuem tempos de respostas semelhantes, apenas o *GCP* apresenta latência de 2,5 maior.

## 4.10 Autonomia da bateria

O cálculo da autônima é realizado com base na equação em (1).

Para o protótipo finalizado aferiu-se o consumo de 12.3mA utilizando a bateria de 3.7V e 4.8Ah.

Com base na equação apresentada em (1), a autonomia da bateria é de 390 horas ou 16 dias.

$$Autonomia(h) = \frac{Capacidadedabateria(Ah)}{Correnteconsumida(A)} \tag{1}$$

$$Autonomia(h) = \frac{4.8(Ah)}{0.0123(A)} = 390.24h \tag{2}$$

Na Figura 20, há a exibição da leitura de corrente consumida pelo dispositivo *IoT* desenvolvido no corrente trabalho.

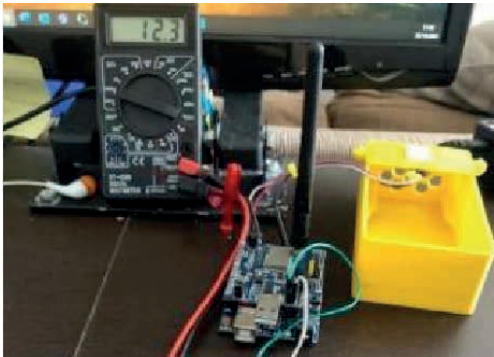



Figura 20 – Corrente consumida pelo dispositivo *IoT*

Fonte: Próprio Autor

## 4.11 Custos

A seguir, estão descritos todos os custos do projeto, sejam relacionados ao *hardware* ou *software* ou desenvolvimento.

### *4.11.1 Custos do hardware*

- Kit de desenvolvimento Sigfox com módulo Wisol, placa Arduino e sensores XKIT1-2 - R$731,40 (SMARTCORE, 2021).
- Dht22 Sensor De Temperatura E Umidade – R$ 25,14 (MOUSER, 2021).
- Bateria 3,7v – 4.8 Ah Li-Ion Recarregável – R$ 18,00 (MERCADO LIVRE, 2021).
- Case físico – Impresso gratuitamente no Laboratório de Engenharia Elétrica da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

O total dos custos relacionados ao hardware do projeto foi: R$774,54.

### *4.11.2 Custos do ambiente em nuvem*

Para este trabalho foram utilizadas apenas contas de avaliação, que permitem a utilização de créditos para consumo dos serviços em nuvem. Não houve custos recorrentes, que dependam de uma assinatura mensal.

Os custos relacionados a cada plataforma de computação em nuvem a seguir estão descritos no Quadro 5.

| Custos das nuvens (R$) | |
|---|---|
| *AWS* | 6,56 |
| *AZURE* | 110,03 |
| *GCP* | 0 |

Quadro 5 – Descrição dos serviços

Fonte: Próprio Autor

Conforme apontamento no Quadro 5, para execução deste trabalho, não houve custos relacionados ao *Google Cloud Platform*. Todo o processamento registrado ficou dentro da camada gratuita e os créditos da conta de estudante não foram utilizados.

## 4.12 Sobre a implementação do ambiente

Em termos de facilidade de implementação do projeto, evidenciou-se que a operação do devkit Sigfox se mostrou simples devido a utilização da *IDE* da placa Arduino e ampla documentação.

Referente as plataformas de computação em nuvem, destacam-se nos quesitos

de facilidade e documentação os provedores *AWS* e *Microsoft Azure* se mostram de fácil manuseio e contam com documentação de boa qualidade.

Quanto ao *Google Cloud Platform*, constatou-se que requer maior conhecimento técnico e a documentação encontrada no site, é menos detalhada se comparada com as demais plataformas.

Para a implementação de ambiente de computação em nuvem é possível a utilização de ferramentas de *IaC* – Infraestrutura como código, para este trabalho utilizou-se da conhecida ferramenta Terraform. Tal ferramenta permite a automação da criação de cenários de aplicações em nuvem.

### 4.13 Desempenho das nuvens segundo as métricas definidas para o trabalho

A Tabela 1 contém as notas atribuídas a cada plataforma de nuvem segundo as métricas descritas no corrente trabalho.

| **Métricas** | ***Amazon Web Service*** | ***Microsoft Azure*** | ***Google Cloud Platform*** |
|---|---|---|---|
| Tempo de operação | 10 | 8 | 4 |
| Custo agregado | 9 | 4 | 10 |
| Facilidade de implementação | 8,5 | 10 | 5 |
| Qualidade de documentação | 10 | 9 | 7 |
| Total | 37,5 | 31 | 26 |

Tabela 1 – Desempenho das plataformas de *Cloud*

Fonte: Próprio Autor

O *Amazon Web Service* ofereceu o serviço mais satisfatório, de acordo com a classificação apresentada na Tabela 1.

O *Microsoft Azure* possui facilidade de implementação e atende a demanda dos dois cenários, todavia o custo agregado para o uso constitui um fator a ser considerado pelo pequeno e médio produtor rural.

Com respeito ao *Google Cloud Platform* destacou-se que em termos de custo, possui a plataforma mais adequada ao produtor rural de pequeno porte, todavia requer maior conhecimento técnico para operação e documentação mais restrita.

## 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos primeiros estágios do projeto, considerou-se a substituição da placa Arduino Uno R3 pela placa Arduino Mega 2560 para aumento de quantidade de portas digitais (ALL3DP, 2020).

Com a placa Arduino Mega e os sensores especificados na lista de materiais, foi medido o consumo de corrente elétrica do projeto em 80 mA. Tal consumo gera o tempo de autonomia da bateria para 60 horas. Devido a esse fator optou-se pela utilização em definitivo da placa Arduino Uno R3, com esta placa o consumo observado foi o descrito na Subseção 4.8.

Para melhorias futuras são indicados trabalhos voltados para otimização bateria e consumo energético.

Existe a possibilidade de integração dos bancos de dados alocados na nuvem com assistentes de voz tais como *Amazon Alexa* ou Google Assistente, o que pode facilitar a utilização para o usuário final (DZONE, 2020).

Com os dados armazenados e usando técnicas de análise de dados, pode-se realizar predições e encontrar correlações que interessem ao usuário (REDHAT, 2021).

Conforme estimativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Mapa, através do uso da tecnologia o Valor Bruto da Produção (VBP) da Agropecuária crescer 9,6% – equivalente um aumento de R$ 101,47 bilhões sobre o atual R$ 1,057 trilhão (MAPA, 2021).

## 6 I CONCLUSÃO

Este trabalho tem o objetivo de evidenciar a melhor solução possível para um desenvolvimento de dispositivo *IoT* e sua respectiva integração ao ambiente de *cloud,* visando o menor custo e melhor performance de forma a beneficiar o pequeno e médio produtor rural do Brasil.

Conforme estudos de empresas como a EMBRAPA e instituições como os Ministérios da Agricultura, Comunicações e Ciência e tecnologia, o uso destas soluções aumentará o desempenho da safra Brasileira e otimizara o uso de recursos no campo.

De acordo com os nossos melhores estudos até o término deste artigo, o dispositivo desenvolvido apresenta desempenho que poderia auxiliar o pequeno e médio produtor rural com um custo baixo dadas as capacidades de retorno de ganho através da prática da agricultura de precisão.

Quanto as plataformas de computação em nuvem, foi observado que cada plataforma fornece um ponto de acesso à nuvem por meio do qual dispositivos físicos podem se conectar de forma segura e privada. Após conexão autorizada, os dispositivos podem começar a enviar seus dados para a nuvem: o protocolo mais utilizado é o *MQTT*.

Os resultados evidenciam como as plataformas, mesmo com tempos de serviço diferentes, atuam de forma uniforme com níveis de desempenho satisfatório. A análise feita com relação aos custos das plataformas, entrega ao leitor mais um elemento de comparação para fazer a sua escolha, ainda que seja possível realizar o mesmo trabalho com o *AWS, Microsoft Azure* e *GCP*.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conduzir e abençoar em todas as coisas; a minha família e amigos em especial minha mãe Maria da Paz, minha esposa Giovanna Martins (Engenheira de Estruturas) e meu amigo Yuri Novaes (Engenheiro de Software), pelo apoio ao projeto. Agradeço ao professor Newton pelo auxílio, tempo e atenção em mim investido, ao professor Frank, pelo empenho no *case* 3D e a todo o IPM e UPM pelos anos em que fui funcionário e aluno destes.


## REFERÊNCIAS


4566 Adafruit I Mouser. Disponível em: <https://br.mouser.com/ProductDetail/485-4566>. Acesso em: 22 nov. 2021.

ACESSDAT4WP18. **Lora e Sigfox - Datatem**, [s.d.]. Disponível em: <https://datatem.com.br/blog/lora-e-Sigfox-conheca/>. Acesso em: 31 out. 2021

**Alexa Skill With Local DynamoDB - DZone Database**. Disponível em: <https://dzone.com/articles/alexa-skill-with-local-dynamodb>. Acesso em: 2 nov. 2021.

ANATEL. **Agência Nacional de Telecomunicações.** Disponível em: https://www.gov.br/anatel/pt-br. Acesso em: 11 de abril de 2021.

**Arduino Uno vs Mega vs Due: The Differences**. Disponível em: <https://all3dp.com/2/arduino-mega-vs-uno-vs-due-differences/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

**AttachInterrupt() - Documentação de Referência do Arduino**. Disponível em: <https://www.arduino.cc/reference/pt/language/functions/external-interrupts/attachinterrupt/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

**Bateria Recarregável Li-ion 18650 4800mah 3.7v Lanterna Led - R$ 18**. Disponível em: <https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-1962332374-bateria-recarregavel-li-ion-18650-4800mah-37v-lanterna-led-_JM>. Acesso em: 22 nov. 2021.

**Brazil (BRA) Exports, Imports, and Trade Partners I OEC**. Disponível em: <https://app-bee.oec.world/>. Acesso em: 26 out. 2021.

BALBINOT, D. C. Proposta e implementação de uma solução para automação residencial. 5 dez. 2019. Disponível em: < https://repositorio.ucs.br/xmlui/handle/11338/6357>. Acesso em: 26 out. 2021.

**Compare os serviços da AWS e do Azure com o Google Cloud**. Disponível em: <https://cloud.google.com/free/docs/aws-azure-gcp-service-comparison?hl=pt-br>. Acesso em: 14 out. 2021.

**Conhecendo o MQTT – IBM Developer**. Disponível em: <https://developer.ibm.com/br/technologies/iot/articles/iot-mqtt-why-good-for-iot>. Acesso em: 13 maio. 2021

**Connecting devices to AWS IoT - AWS IoT Core**. Disponível em: <https://docs.aws.amazon.com/iot/latest/developerguide/iot-connect-devices.html>. Acesso em: 2 nov. 2021.

**Crie sua conta gratuita do Azure hoje l Microsoft Azure**. Disponível em: <https://azure.microsoft.com/pt-br/free/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

DARWISH, A. et al. The impact of the hybrid platform of internet of things and cloud computing on healthcare systems: opportunities, challenges, and open problems. **Journal of Ambient Intelligence and Humanized Computing**, v. 10, n. 10, p. 4151–4166, 1 out. 2019. Acesso em: 26 out. 2021.

Distribuidor de Componentes Eletrônicos - **Mouser Electronics Brasil**. Disponível em: <https://br.mouser.com/>. Acesso em: 17 nov. 2021.

GALINARI, Graziella; RODRIGUES, Nadir; SILVA, Joana. **Pesquisa mostra o retrato da agricultura digital brasileira**. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/54770717/pesquisa-mostra-o-retrato-da-agricultura-digital-brasileira. Acesso em: 02 maio 2021.

GARCIA, Michael. **Connect your devices to AWS IoT using the Sigfox network**. 2017. Disponível em: <https://aws.amazon.com/blogs/iot/connect-your-devices-to-aws-iot-using-the-sigfox-network/>. Acesso em: 26 out. 2021.

**Gartner Forecasts Worldwide Public Cloud End-User Spending to Grow 18% in 2021**. Disponível em: <https://www.gartner.com/en/newsroom/press-releases/2020-11-17-gartner-forecasts-worldwide-public-cloud-end-user-spending-to-grow-18-percent-in-2021>. Acesso em: 29 abr. 2021.

**Getting Started l Sigfox Resources**. Disponível em: <https://support.Sigfox.com/docs/callbacks-documentation>. Acesso em: 31 out. 2021.

GIALELIS, John et al. A Low Cost Energy Efficient IoT Node Utilized in the Agricultural Field. In: **2020 9th Mediterranean Conference on Embedded Computing (MECO)**. IEEE, 2020. p. 1-6. Disponível em: https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/9134184?casa_token=Acwh8OmF1B4AAAAA:gpCtguvgtE_ZEqcTsrokbRhOcN42viy8tQc-Qa-o-m5EZ2xZ6YaetAa5f5hlMcvyXbR-VReKr49S. Acesso em: 07 maio 2021

GILL, Navdeep Singh. Serverless Solutions and Architecture for Big Data, and Data Lake. 2021. Disponível em: https://www.xenonstack.com/blog/serverless-data. Acesso em: 28 out. 2021.

IEEE. **Base de artigos e conferências do IEEE – Xplore.** Disponível em: https://ieeexplore.ieee.org/Xplore/home.jsp. Acesso em: 28 de março de 2021.

INFONOVA. **Principais provedores de nuvem no Brasil.** Disponível em: https://www.infonova.com.br/cloud/principais-provedores-de-nuvem/. Acesso em 10 maio 2021.

**Introduction to the Sigfox Gateway**. Maturix, [s.d.]. Disponível em: <https://maturix.com/help/introduction-to-the-sigfox-gateway/>. Acesso em: 3 dez. 2021

JUNIOR, D. A. F. et al. Implantação de múltiplos gateways IoT definido por software e virtualizado para campus inteligente. **D. A.**, n. 25, p. 17, 2020. Acesso em: 26 out. 2021.

**Kit de desenvolvimento Sigfox com módulo Wisol, placa Arduino e sensores (XKIT1-2)**. Disponível em: <https://loja.smartcore.com.br/xkit1-2-kit-de-desenvolvimento-Sigfox>. Acesso em: 15 out. 2021.

LAVRIC, A.; PETRARIU, A. I.; POPA, V. **Sigfox Communication Protocol: The New Era of IoT?** 2019 International Conference on Sensing and Instrumentation in IoT Era (ISSI). **Anais**... In: 2019 INTERNATIONAL CONFERENCE ON SENSING AND INSTRUMENTATION IN IOT ERA (ISSI). ago. 2019. Acesso em: 26 out. 2021.

LEPISTO, Markku. **Integrating Sigfox IoT network with Google Cloud**. 2020. Disponível em: <https://cloud.google.com/community/tutorials/sigfox-gw>. Acesso em: 26 out. 2021.

LEPISTO, Markku. **Using Sigfox Sens'it with Google Cloud**. 2020. Disponível em: <https://cloud.google.com/community/tutorials/sigfox-sensit>. Acesso em: 26 out. 2021.

LIU, Vivian. **Connect devices from other IoT clouds to Azure IoT Central**. 2018. Disponível em: <https://azure.microsoft.com/pt-br/blog/connect-devices-from-other-iot-clouds-to-azure-iot-central/>. Acesso em: 26 out. 2021.

MASCARENHAS, Ana Patrícia Fontes Magalhães et al. Desenvolvimento de produtos IOT. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 4711-4724, 2021. Acesso em: 23 de abril de 2021. Disponível em: https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/23059. Acesso em: 23 de abril de 2021.

MCKINSEY, McKinsey Global Intitute. Produto 8: Relatório do Plano de Ação: iniciativas e projetos mobilizadores. Brasília: 2017. Acesso em: 23 de abril de 2021.

MEKKI, K. et al. A comparative study of LPWAN technologies for large-scale IoT deployment. **ICT Express**, v. 5, n. 1, p. 1–7, 1 mar. 2019. Acesso em: 26 out. 2021.

**Ministério da Agricultura vai ampliar a conectividade no campo**. **Sociedade Nacional de Agricultura**, [s.d.]. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/ministerio-da-agricultura-vai-ampliar-a-conectividade-no-campo/>. Acesso em: 8 nov. 2021.

NGUYEN, Dinh C. et al. Integration of blockchain and cloud of things: Architecture, applications and challenges. **IEEE Communications Surveys & Tutorials**, v. 22, n. 4, p. 2521-2549, 2020. Disponível em: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3639063. Acesso em: 27 abr. 2021

NIST, S. P. 800-145: The NIST definition of cloud computing. 2012.. Disponível em: https://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/Legacy/SP/nistspecialpublication800-145.pdf. Acesso em: 17 mar. 2021.

**O que é data lake?** Disponível em: <https://www.redhat.com/pt-br/topics/data-storage/what-is-a-data-lake>. Acesso em: 2 nov. 2021.

**Paessler BitDecoder - Visual Payload Decoding of Sigfox data**. Disponível em: <https://www.paessler.com/tools/bitdecoder>. Acesso em: 20 out. 2021.

**Payload I Sigfox build**. Disponível em: <https://build.Sigfox.com>. Acesso em: 31 out. 2021.

PIERLEONI, Paola et al. Amazon, Google and Microsoft solutions for *IoT*: architectures and a performance comparison. **IEEE Access**, v. 8, p. 5455-5470, 2019. Disponível em: https://ieeexplore.ieee.org/document/8938723. Acesso em: 23 abr. 2021.

**Project: Example using a RTC to wake-up an Arduino Data Logger**. Disponível em: <https://thekurks.net/blog/2018/2/5/wakeup-rtc-datalogger>. Acesso em: 2 nov. 2021.

**Publishing over the MQTT bridge | Cloud IoT Core Documentation**. Disponível em: <https://cloud.google.com/iot/docs/how-tos/mqtt-bridge?hl=pt-br>. Acesso em: 2 nov. 2021.

**Rede Sigfox: o que é e onde aplicar? Novidá**, 21 jan. 2019. Disponível em: <https://www.novida.com.br/blog/Sigfox/>. Acesso em: 26 out. 2021.

RODRIGUES, MATEUS. **IoT + Cloud Computing (Sigfox + AWS, AZURE and GCP)**, 7 nov. 2021. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=DWesvJ7yAVg>. Acesso em: 8 nov. 2021

RODRIGUES, M. mtsrodrigues4991/IoT_Cloud_Final_Paper_Graduation: [s.l.] Zenodo, 2021. Disponível em: <https://zenodo.org/badge/latestdoi/424968769>. Acesso em: 05 nov. 2021.

SADEEQ, M.M., Abdulkareem, N.M., Zeebaree, S.R., Ahmed, D.M., Sami, A.S. and Zebari, R.R., 2021. ***IoT* and *Cloud Computing* issues, challenges and opportunities**: A review. Qubahan Academic Journal, 1(2), pp.1-7, 2021. Disponível em: https://journal.qubahan.com/index.php/qaj/article/view/36. Acesso em: 02 maio. 2021.

SIMET. Mapa de Cobertura e Disponibilidade da Internet Brasileira. Disponível em: https://simet.nic.br/mapas/. Acesso em: 20 abril de 2021.

**SIGFOX.COM**. Disponível em: <https://www.Sigfox.com/en>. Acesso em: 15 out. 2021.

TECA - INTERNET DE LAS COSAS. **Integrando Sigfox con Azure - Teca**, 26 jul. 2021. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=AjB08kUhbOM>. Acesso em: 26 out. 2021.

**teleco.com.br**. Disponível em: <https://www.teleco.com.br/lpwa_cobertura.asp>. Acesso em: 19 out. 2021.

**Thinxtra Sigfox Developer Xkit**. Disponível em: <https://thinxtra.com/iot-connectivity/xkit/>. Acesso em: 26 out. 2021.

ZOLETT, D.; RAMIREZ, A. R. G. Desenvolvimento de uma Interface de Monitoração Remota para o Sistema Robótico ROBIX, Integrando o Protocolo MQTT e oROS. **Anais do Computer on the Beach**, v. 11, n. 1, p. 405–412, 4 set. 2020. Acesso em: 26 out. 2021.

## CAPÍTULO 19

# THE ROLE OF PHYTIC ACID IN PLANT-BASED INGREDIENTS FOR ANIMAL FEED: A REVIEW

*Data de submissão: 01/12/2023* *Data de aceite: 01/02/2024*

**Hilton Nobre da Costa**
Federal Rural University of Pernambuco
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-3485-3162

**Elisabete Albuquerque dos Santos Benvenuto**
Federal Rural University of Pernambuco, Agronomy Department
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-6625-4797

**Gilcifran Prestes de Andrade**
Federal Rural University of Pernambuco, Department of Animal Morphology and Physiology
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/8291064936047474

**Priscilla Virgínio de Albuquerque**
Federal Rural University of Pernambuco, Department of Animal Morphology and Physiology
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/4763179519142393

**Apolônio Gomes Ribeiro**
Federal University of Paraíba, Department of Animal Science
Areia - Paraíba
https://orcid.org/0000-0001-6730-0209

**Dayane Albuquerque da Silva**
Federal Rural University of Pernambuco, Department of Animal Science
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0001-6243-3969

**Emmanuela Prado de Paiva Azevedo**
Federal Rural University of Pernambuco, Department of Rural Technology
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-8682-7556

**Diego Vicente da Costa**
Federal University of Minas Gerais, Institute of Agricultural Sciences
Montes Claros - Minas Gerais
https://orcid.org/0000-0001-7096-396X

**Carlos Bôa-Viagem Rabello**
Federal Rural University of Pernambuco, Department of Animal Science
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0002-5912-162X

**Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke**
Federal Rural University of Pernambuco, Department of Animal Science
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0003-4895-2599

**Júlio Cézar dos Santos Nascimento**
Federal Rural University of Pernambuco,
Department of Animal Science
Recife - Pernambuco
https://orcid.org/0000-0003-3107-5876

**ABSTRACT:** Phytates play pivotal roles in plant physiology, acting as reservoirs for phosphorus and specific cations throughout various stages of plant life cycles. They are essential raw materials for cell wall formation after germination and shield seeds against oxidative stress during storage. However, their chelating effect forms robust bonds with amino acids, starch, and vital minerals, detrimentally affecting nutrient assimilation in feed and consequently diminishing feed yield. This article investigates the antinutritional aspects of phytates, exploring their reactivity, chelating actions, and adverse effects on gastrointestinal metal availability in animals. In addition, the article examines how unutilized phytates during poultry and pig feeding contribute to environmental concerns as they are excreted, contributing to groundwater eutrophication. The European Union now mandates feed supplementation with exogenous microbial phytases to address this issue. The terms phytate, phytic acid, myo-inositol, myo-inositol hexaphosphate, and phytin are used to denote different forms of this antinutritional factor. Despite being hydrolyzed by phytase enzymes, these compounds remain distinct. Inositol, a constituent prevalent in cereals, plays critical roles in various biological processes, including insulin signal transduction, calcium concentration control, and gene expression. This study elucidates the interaction of phytic acid with proteins under variation pH conditions, delineating its role in forming insoluble complexes and impacting enzymatic activities. Phytate is considered one of the most potent antinutritional factors, leading to substantial nutritional losses and diminished protein and energy availability in animals. The content of phytic phosphorus varies among ingredients of plant origin, which influences phosphorus bioavailability. Dietary phosphorous utilization varies across species, with ruminants exhibiting higher utilization due to fermenting microorganisms secreting phytase. Understanding the implications of phytates on nutrient availability is paramount for animal nutrition and environmental conservation. This article underscores the necessity of evaluating phosphorus bioavailability to enhance ingredient utilization and mitigate ecological impacts.
**KEYWORDS:** anti-nutritional factor, phytic acid, bioavailability, animal nutrition, environmental conservation

## 1 I INTRODUCTION

Phytates have several important functions in plant physiology during the life cycle of plants, including the storage of phosphorus and some cations, which provide raw material for the formation of the cell wall after germination. In addition, phytate protects the seed against oxidative stress during storage. The greatest negative effect of phytates is their chelating effect or strong bonds with other molecules such as amino acids, starch, and

minerals such as calcium, iron, zinc, and magnesium (Figure 01). This effect affects the assimilation of nutrients needed in feed and, consequently, a significant reduction in the yield of the feed used (Yin et al., 2007; Benevides et al., 2011).

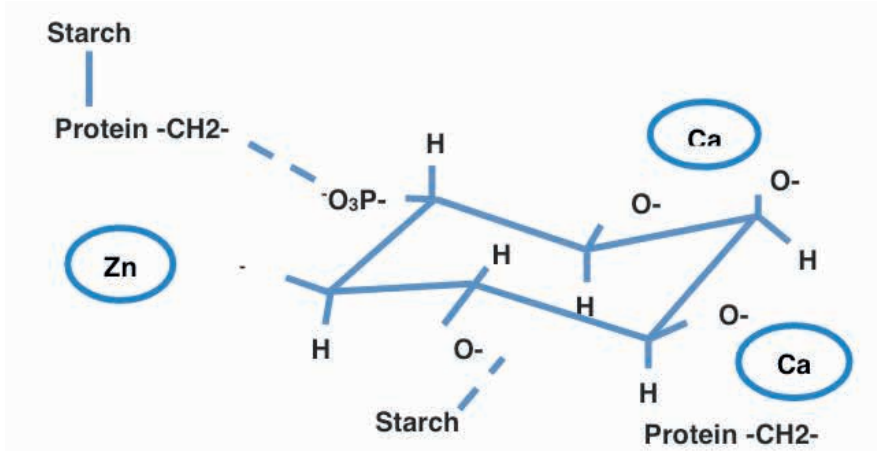



Figure 01. Representation of the phytate-nutrient complex (Reproduced from Bertechini, 2013)

According to Nagashiro (2007), the antinutritional nature of phytate can be attributed to several factors, such as: high reactivity of the molecule, providing a strong chelating action, making metals such as $Ca^{+2}$, $Mg^{+2}$, $Zn^{+2}$, $Fe^{+2}$ unavailable in the gastrointestinal tract of animals; formation of complexes with amino acids that resist enzymatic hydrolysis, because the phosphate groups of phytic acid can electrostatically bind to the terminal amine groups or to the residues of the amino acids lysine and arginine; interaction with amylase, trypsin, and acid phosphatase enzymes, among others, resulting in reduced activity and inhibition; formation of a phytate–mineral– protein complex that can be formed with multivalent cations, making the bound proteins less susceptible to proteolytic hydrolysis.

Another negative factor of phytates is that they are not used during the feeding of poultry and pigs, leading to their direct excretion into the environment. Phytates are hydrolyzed by microorganisms that are part of the soil microbiota, and the phosphorus released flows into the groundwater, causing eutrophication of water in areas where animals are intensively produced. In recent years, the European Union has passed important environmental laws obliging poultry and pig producers to supplement their feed with exogenous microbial phytases (Leal et al., 2010).

Phytate, phytic acid, *myo-inositol*, *myo-inositol* hexaphosphate (Figure 02) and phytin as terms used to refer to different forms of an anti-nutritional factor (Figure 02). Although phytase enzymes hydrolyze all these substances, they are distinct compounds: *myo-inositol* hexaphosphate, phytic acid or phytate, a term used to refer to the mixed salt of phytic acid; *myo-inositol* is the free form of the aromatic ring of phytate (inositol), without the phosphate groups (PO43-); phytin, on the other hand, refers specifically to the complex of *myo-inositol*

hexaphosphate with potassium, magnesium and calcium, as occurs in vegetables (Valle, 2010).

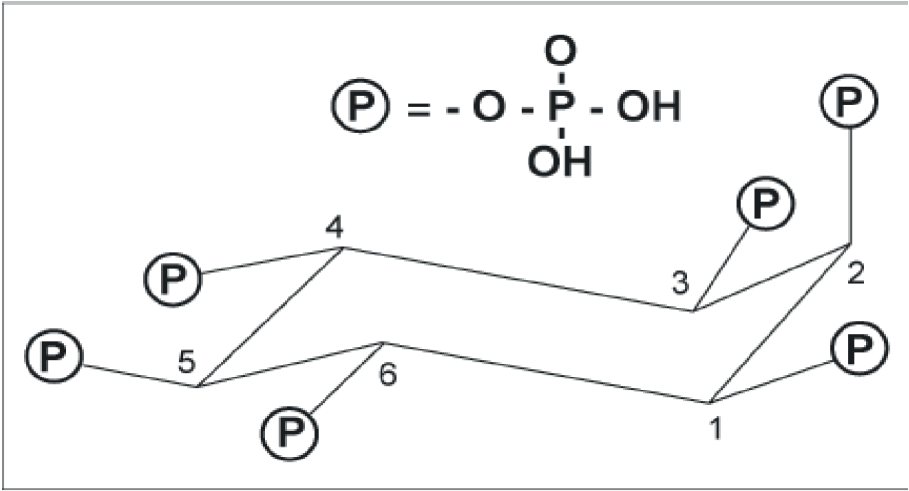



Figure 02. Molecular structure of phytate, *myo-inositol* 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihydrogen phosphate) acid (Reproduced from Faria et al., 2006).

Phytate, phytic acid, myo-inositol, myo-inositol hexaphosphate (Figure 02), and phytin are terms used to refer to different forms of an antinutritional factor (Figure 02). Although phytase enzymes hydrolyze all these substances, they are distinct compounds: myo-inositol hexaphosphate, phytic acid, or phytate, a term used to refer to the mixed salt of phytic acid; myo-inositol is the free form of the aromatic ring of phytate (inositol), without the phosphate groups ($PO_4^{3-}$); phytin, on the other hand, refers specifically to the complex of myo-inositol hexaphosphate with potassium, magnesium, and calcium, as occurs in vegetables (Valle, 2010).

Inositol is found in many foods, especially cereals. As the basis of many signaling and secondary messenger molecules, inositol is implicated in many biological processes, including insulin signal transduction, control of intracellular calcium concentration, cell membrane potential, modulation of serotonin activity, fat metabolism, and reduction of blood cholesterol levels and gene expression (Larner, 2002).

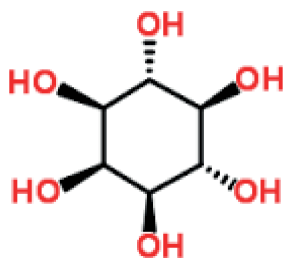



Figure 03. Chemical structure of the *myo-inositol* molecule (IUPAC, 1968)

According to Silva (2004), at neutral pH, orthophosphate groups have one or two negatively charged oxygen atoms; consequently, several cations can be strongly chelated between two phosphate groups or weakly chelated with one phosphate group. The interaction with the protein is dependent on pH conditions, as is done by ionic bonding, as shown in Figure 4. Under acidic conditions, phytic acid has a negative charge and can bind to basic residues through strong electrostatic interactions, resulting in an insoluble complex. At neutral pH, the protein will not bind to phytic acid because its charge is neutral. At basic pH, phytic acid forms a complex with the protein in the presence of divalent cations, which act as a bridge between the negatively charged carboxyl group and phytic acid. Several studies have shown that proteins from soy, corn, wheat, rapeseed, sunflower meal, and rice form complexes with phytic acid (Ravindran et al., 2001).

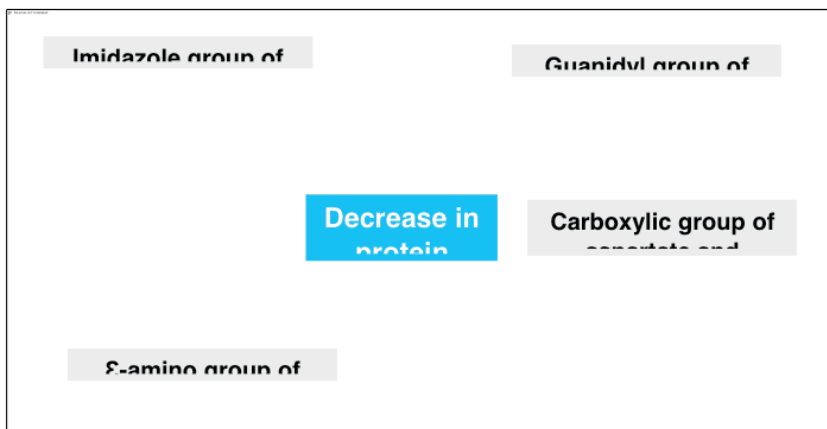



Figure 04. Schematic representation of the interaction between phytic acid and amino acids (Personal archive).

Phytate is a complex compound that is considered to be one of the most potent antinutritional factors. It is responsible for significant nutritional losses, reducing protein and energy availability to the animal as well as increasing mucin production and cell turnover in

the digestive tract (Cowieson et al, 2006). Phytic phosphorus is the phosphorus that forms part of the inositol hexaphosphate ($IP_6$) molecule, which is only found in plants. The inositol phosphates found in cereal grains contain approximately 90% of the inositol in the hexa phosphorus form ($IP_6$), with the remaining 10% corresponding to the sum of the penta ($IP_5$), tetra ($IP_4$), and triphosphates ($IP_3$). Consequently, only $IP_5$ and IP6 have a negative effect on mineral bioavailability. The other inositol phosphatides formed have a low capacity to bind to minerals (Valle, 2010).

The amount of phytic phosphorus in cereal grains and oilseeds depends on their location. In maize, phytate is found in large quantities in the germ; in legumes, it accumulates in the cotyledons and soybeans; in particular, it is found attached to protein bodies distributed throughout the seed (Selle et al., 2003; Valle, 2010).

Animal nutrition is mainly based on ingredients of plant origin, in which 66% of the phosphorus is in the form of inositol hexaphosphate, which is unavailable for absorption by non-ruminant animals. The phytate content varies between ingredients (Table 02), directly affecting the bioavailability of phosphorus. According to the NRC (1994), only 33% and 42% of this mineral is bioavailable in corn and soybean meal, respectively (Borgatti et al., 2009). Determining the bioavailability of phosphorus is essential for assessing the use of ingredients by animals and protecting the environment, as the ecological impact of eliminating fecal phosphorus is considerable (Borgatti et al., 2009).

| Ingredients | Total phosphorus (%) | Phytic phosphorus (%) | Non-phytic phosphorus (%) | Phosphorus digestibility (%) | Digestible phosphorus (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Corn | 0,24 | 0,17 | 0,07 | 29,0 | 0,07 |
| Wheat | 0,27 | 0,19 | 0,08 | 38,0 | 0,1 |
| Rice bran | 1,31 | 1,05 | 0,26 | 16,0 | 0,24 |
| Wheat bran | 0,99 | 0,79 | 0,20 | 37,0 | 0,37 |
| Soybean meal | 0,39 | 0,23 | 0,16 | 42,0 | 0,16 |
| Meat and bone meal | 5,0 | 0,0 | 5,0 | 61,0 | 3,05 |
| Fish meal | 2,20 | 0,0 | 2,20 | 74,0 | 1,63 |

Table 02. Contents of total phosphorus, phytic phosphorus, non-phytic phosphorus and phosphorus digestibility in ingredients used in poultry and pig feed (Borgatti et al., 2009).

level of utilization of dietary phosphorus also varies according to species and is directly related to the anatomical and physiological characteristics of the gastrointestinal tract. Therefore, in the descending order of utilization of dietary phosphorus, there are ruminants, monogastric herbivores , poultry, and pigs. It should be noted that, for poultry and pigs, the bioavailability of dietary phosphorus is approximately 30% and 20%–60%, respectively. Younger animals are less able to use phytic phosphorus and are even more susceptible to a reduction in dietary digestibility (Silva, 2012).

In ruminant animals, phytic phosphorus is made available by fermenting microorganisms, which secrete the enzyme phytase, which has an intensive action on phytates (Dvoraková et al., 1997). However, phosphorus that may not have been made available by rumen microorganisms flows into other gastric compartments, remains in an unavailable form, and is finally excreted (Silva, 2012).

## 2 I CONCLUSION

In conclusion, the multifaceted role of phytates in plant physiology is undeniable, encompassing the storage of phosphorus and cations, formation of the cell wall, and protection of seeds against oxidative stress. However, their substantial negative impact stems from their chelating effect, forming strong bonds with essential molecules and minerals, preventing the assimilation of nutrients in food and consequently reducing food yields. The anti-nutritional nature of these compounds is attributed to their high reactivity, strong chelating action, and formation of complexes with amino acids, hindering enzymatic hydrolysis and leading to a reduction in the activity of critical enzymes. In addition, there are environmental consequences, such as the eutrophication of groundwater, when phytates not used in poultry and pig feed result in direct excretion into the environment. In this context, it is important to meet the requirements for supplementing animal feed with exogenous microbial phytases. Inositol, abundant in cereals, plays pivotal roles in various biological processes, underscoring the broader implications of phytates in nutritional contexts. The intricate interaction of phytic acid with proteins under different pH conditions further elucidates its impact on forming complexes and affecting enzymatic activities. Ultimately, the potent antinutritional nature of phytates, responsible for substantial nutritional losses and diminished protein and energy availability in animals, prompts a critical reevaluation of dietary phosphorus utilization. The variable utilization across species highlights the importance of considering anatomical and physiological characteristics in assessing dietary phosphorus bioavailability.

Understanding the complex interplay of phytates in plant and animal systems is essential not only for optimizing animal nutrition but also for mitigating the ecological impacts associated with their presence in feed and subsequent excretion into the environment.

## REFERENCES

ANDRIGUETTO J. P., PERLY, L., MINARDI, I., GEMAEL A., FLEMMING J.S., SOUZA, G.A., BONA, A. **Nutrição animal**. Livraria Nobel: São Paulo,. 385p. v. 1, 1982.

ANTOV, M.G.; PERICIN, D.M.; DASIC, M.G. **Aqueous two-phase partitioning of xylanase produced by solid-state cultivation of *Polyporus squamosus***. Process Biochemistry (41):232-235, 2006.

ARAÚJO, D.M., SILVA, J.H.V., MIRANDA, E.C. **Wheat bran and enzyme complex in the feeding of semi-heavy layers in the production phase**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, n. 5, p. 843-848, 2008.

AZEVEDO, A.M., GOMES, A.G., ROSA, P.A.J., FERREIRA, I.F., PISCO, A.M.M.O., AIRES-BARROS, M.R. **Partitioning of human antibodies in polyethylene glycol - sodium citrate aqueous two-phase systems**. Separation and Purification Technology (65):14-21, 2009.

BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; BONATO, M.A.; HAUSCHILD, L.; OVIEDORONDON, E. **Exogenous enzymes in broiler diets: performance**. Ciência Rural, v.42, p.1497-1502, 2012. DOI: 10.1590/S0103-84782012000800027.

BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxfordshire: CABI Publishing,. 319 p., 2010. DOI: 10.1079/9781845936747.0000.

BEIJERINCK, M.W. **Journal of Colloid and Interface Science** (7):16, 1910.

BENEVIDES, M.V.S., SOUZA, R.D.B, LOPES, M.V. **Factores antinutricionais em alimentos**: Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, 18 (2): 67-79, 2011.

BENSCH, M., SELBACH, B., HUBBUCH, J. **High throughput screening techniques in downstream processing: preparation, characterization and optimization of aqueous two-phase systems**. Chemical Engineering Science (62):2011-2021, 2007.

BETERCHINI, A.G. **Nutrição de Monogastricos,** 2nd revised edition, Editora UFLA, Universidade Federal de Lavras - MG, 373 p., 2013.

BHAVSAR, K., RAVI KUMAR, V., KHIRE, J. **Downstream Processing of Extracellular Phytase from *Aspergillus niger*: Chromatography Process Vs. Aqueous Two Phase Extraction for its Simultaneous Partitioning and Purification**. Process Biochem 47: 1066-1072, 2012.

BINDU, S., SOMASHEKAR, D., JOSEPH, R. **A comparative study on permeabilization treatments for *in situ* determination of phytase of *Rhodotorula gracilis.*** Lett. Appl.Microbiol., v.27, p.336-340, 1998.

BOERIS, V., SPELZINI, D., FARRUGGIA, B., PICO, G. **Aqueous two-phase extraction and polyelectrolyte precipitation combination: A simple and economically technologies for pepsin isolation from bovine abomasum homogenate**. Process Biochemistry (44):1260-1264, 2009.

BORGATTI, L.M.O., VITTI, D.M.S.S., OLIVEIRA, T.M., MARTINS, B.A.B., ALBUQUERQUE, R., SOUZA, L.W.O. **Relative bioavailability of phosphorus in ingredients with low phytate content determined on the basis of bone mineralization in broilers**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.10, p.1901-1906, 2009.

BOTELLA, C.; DIAZ, A.; ORY, I.; WEBB, C; BALANDINO, A. **Xylanase and pectinase production by *Aspergillus awamori* on grape pomace in solid fermentation**. Process Biochemistry (42):98-101, 2007.

BREJNHOLT, S. M., DIONISIO, G., GLITSOE, V., SKOV, L. K., BRINCH-PEDERSEN, H. **The degradation of phytate by microbial and wheat phytases is dependent on the phytate matrix and the phytase origin**. J. Sci. Food Agric. 91: 1398-1405, 2011.

CAMPESTRINI, E., SILVA, V.T.M., APPELT, M.D. **Use of enzymes in animal feed**. Revista Eletrônica Nutritime, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CANALES, M., BALLESTEROS, C., MORENO-CID, J.A., ESPINOSA, A.M., VILLAR M, DE LA FUENTE. **Extractive bioconversion to produce the *Aedes albopictus* akirin in an aqueous two-phase system supporting *Pichia pastoris* growth and protein secretion**. Biochemical Engineering Journal (46):105-114, 2009.

CASEY, A.; WALSH, G. **Purification and characterization of extracellular phytase from *Aspergillus niger* ATCC 9142**. Bioresource Technology**.** 86 (2) 183-188, 2004.

CISNEIROS, M., BENAVIDES, J., BRENES, C. H., RITO-PALOMARES, M. **Recovery inaqueous two-phase systems of lutein produced by the green microalga *Chlorella protothecoides***. Journal of Chromatography B, v.807, p.105-110, 2004.

CLEÓPHAS, G.M.L., Van HARTINGSVELDT, W., SOMERS, W.A.C. **Enzymes can play an important role in poultry nutrition**. World Poult., 11(4):12-15, 1995.

CORTELAZZI, C.Q.L. **Available phosphorus for broilers in phosphates for animal feed**. Master's thesis. Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny, University of São Paulo, p. 61, 2006.

COSTA, S.A., PESSOA JR, A., ROBERTO, I.C. **Partitioning of xylanolitic complex from *Penicillium janthinellum* by an aqueous two-phase system**. **Journal of Chromatography B** (743):339-348, 2000.

COSTA, F.G.P.; QUIRINO, B.J.S.; GIVISIEZ, P.E.N.; SILVA, J.H.V.; ALMEIDA, H.H.S.; COSTA, J.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; GOULART, C.C. **Layers fed with different levels of energy and soybean oil in feed**. Arch. zootec., v.58, n.223, 2009.

COWIESON, A. J., HRUBY, M., PIERSON, E.E.M. **Evolving enzyme technology: impact on commercial poultry nutrition**. Nutrition Research Reviews 19 (1) 90-103, 2006.

DA SILVA, M.E., FRANCO, T.T. **Purification of Soybean Peroxidase (Glycine Max) by Metal Affinity Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems**. J Chromatogr B 743: 287-294, 2000.

DASGUPTA, S., DASGUPTA, D., SEM, M., BISWAS, B.B. **Interaction of myoinositoltriphosphate-phytase complex with the intracellular Ca2+ mobilization in plants.** Biochemistry, v.35, p.4994-5001, 1996.

DEDAVID, E., SILVA, L.A. **Production, characterization of cellulase enzymes by *Aspergillus phoenicis***. Master's dissertation. Federal University of Rio Grande do Sul, 2008.

DIBNER, J. J., RICHARDS, J. D. **Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action**. Poult. Sci. 84:634-643, 2005.

DVORAKOVÁ, J. **Characterization of Phytase Produced by *Aspergilus niger***. Folia Microbiol. 42 (4), p. 349-352, 1997.

EL-GINDY, A.A., IBRAHIM, Z.M., ALI, U.F., EL-MAHDY, O.M. **Extracellular phytase production by solid-states cultures of *Malbranchea sulfurea* and *Aspergillus niveus* on cost-effective medium**. Research Journal of Agricultural and Biological Sciences 5 (1):42-62, 2009.

ENGELEN, A.J., HEEFT, VAN DER., RANSDORP, H.G.P., SMIT, L.C.E. **Simple and rapid determination of phytase activity**. J. AOAC Int., v.77, p.760-764, 1994.

FARIA, O.L.V., KOETZ, P.R., SANTOS, M.S.; NUNES, W.A. **Phosphorus removal from rice parboiling effluents by stimulated biological absorption in a sequential batch reactor (RBS).** Ciênc. Tecnol. Aliment., vol.26, n. 2, Campinas, 2006.

FIREMAN, A.K.B.A.T.; FIREMAN, F.A.T. **Fitase na alimentação de poedeiras**; Revista Ciência Rural (28):529-534, 1998.

FISKE, C.H., SUBBAROW, Y. **The colorimetric determination of phosphorus**. J. Biol.Chem., v.66, p.375-410, 1925.

FRANCO, T.T.; KILIKIAN, B.V.; COIMBRA, J.S.R.; MEIRELES, A.J.A. **Liquid-liquid extraction in aqueous two-phase systems.** Purificação de Produtos Biotecnológicos, 1 ed., Editora Manole, p. 114-165, 2005.

FRY, R.E., ALLRED, J.B., JENSEN, L.S., McGINNIS, J. **Influence of enzyme supplementation and water treatment on the nutritional value of different grains for poults**. Poultry Science, v. 37, p. 372-375, 1958.

GARCHOW, B.G., JOG, S.P., MEHTA, B.D., MONOSSO, J.M., MURTHY, P.P.N. **Alkaline phytase from *Lilium longiflorum:* Purification and structural characterization.** Protein Expres. Purif., v.46, p.221-232, 2006.

GREINER, R., SILVA, L.G., COURI, S. **Purification and characterization of an extracellular phytase from *Aspergillus niger* 11T53A9**. Braz. J. Microbiol., v. 40, p. 795-807, 2009.

GUIMARÃES, I.C., SOUZA, A.R.M., CORNÁLIO, V.M.O., PEREIRA, J., VILLELA, V.A. **Identification of toxigenic *Aspergillus spp. in* rice**. Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos 30 (1):60-62, 2010.

GUIMARÃES, I.G., FALCON, D.R., SCHICH, D., BARROS, M.M., PEZZATO, L.E. **Apparent digestibility of feeds containing enzyme complex for nile tilapia.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia (61):6, 2009.

GULATI, H.K.; CHADA, B.S.; SAINI, H.S. **Production, purification and characterization of thermostable phytase from thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus* TL-7**. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 54(2):121- 138, 2007.

GUO, M-J., ZHUANG, Y-P., CHU, J., ZHANG, S-L., XIONG, A.S., PENG, R.H., YAO, Q-H. **Production and purification of a novel thermostable phytase by *Pichia pastoris* FPHY34**. Process Biochemistry, v. 42, p. 1660-1665, 2007.

HAN, Y.K., JIN, Y.H., KIM, J.H., TRACKER, P.A. **Influence of enzyme and/or lysolecithin supplementation on performance, nutrient digestibility and egg quality for laying hens.** Trends Animal Vet Science Journal, v. 1, n. 1, p. 28-35, 2010.

HARTER-DENIS, J. **Biotechnology in the feed industry.** Proc. Alltech's 15th Annual Symposium. Ed. T.P. Lyons and K.A. Jacques. Nottingham University Press. pp: 511-522, 1999.

HEDAYATE, M.T., PASQUALOTTO, A.C., WARN, P.A., BOWYER, P., DENNING, D.W. ***Aspergillus flavus*****: human pathogen, allergen and mycotoxin producer.** Microbiology 153:1677-1692, 2007.

HEINONEN, J.K., LAHTI, R.J. **A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its applications to the assay of inorganic pyrophosphate**. Anal. Biochem., v.113, p.313-317, 1981.

HEMAVATHI, A.B., RAGHAVARAO, K.S.M.S. **Differential Partitioning of β-Galactosidase and β-Glucosidase using Aqueous Two Phase Extraction.** Process Biochem 46: 649-655, 2011.

HENN, J.D. **Enzymatic additives in pig and poultry diets**. In: Biochemistry of animal tissue. Postgraduate in Veterinary Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, 2009. Available at: http://www6.ufrgs.br/bioquimica/> Accessed on: 12/12/2014.

HUANG, H., HUIYING, L., YANG, P., MENG, K., WANG, Y., YUAN, T., BAI, Y., YAO, B. **A novel phytase with preferable characteristics from *Yersinia intermedia*.** Biochem. Bioph. Res. Co. 350: 884-889, 2006.

IGBASAN, F.A., K. MANNER, G. MIKSCH, R. BORRISS, A. FAROUK, O. SIMON. **Comparative studies on the *in vitro* properties of phytases from various microbial origins**. Arch. Anim. Nutr. 53:353-373, 2000.

IUPAC-IUB. **International Union of Pure and Applied Chemistry - International Union of Biochemistry**. The nomenclature of cyclitols. Eur. J. Biochem. (51), 1968.

JONGBLOED, A.W., KEMME, P.A. **Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs**. Journal of Animal Science 72 (1):126-132, 1994.

KARKAS, T., ÖNAL, S. **Characteristics of Invertase Partitioned in Poly (Ethylene Glycol)/ Magnesium Sulfate Aqueous Two-Phase System**. **Biochem Eng J** 60: 142-150, 2012.

KIM, Y.O., KIM, H.K., BAE, K.S., YU, J.H., OH, T.K. **Purification and properties of a thermostable phytase from *Bacillus sp.*** DS11. Enz. Microb. Technol., v. 22, p. 2-7, 1998.

KIM, S.D., KIM, M.K., WOO, C.J., RHEE, C.H., LEE, S.H. **Characterization of psychrophilic yeast in Kimchi**. Food Sci Biotechnol, 9:277-279, 2006.

KLICH, M.A. ***Aspergillus flavus*****: the major producer of aflatoxin.** Mol. Plant Pathol. 8: 713-722, 2007.

KORNEGAY, E.T. **Effect of phytase on the bioavailability of phosphorus, calcium, amino acids, and trace minerals in broilers and turkeys.** BASF, Technical Symposium. World Congress Center, p. 39-70, 1996.

KONIETZNY, U., GREINER, R. **Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases).** Int. J. Food Sci. Tech. 37: 791-812, 2002.

KRABBE, E. L.; LORANDI, S. **VI Current developments and trends in the use of enzymes in poultry nutrition**, Latin American Congress of Animal Nutrition, Federal University of Pelotas - Pelotas/RS, 2014.

LAMBRECHTS, C., BOZE, H., MOULIN, G., GALZY, P. **Utilization of phytate by some yeasts**. Biotechnol. Lett., v.14, p.61-66, 1992.

LARNER, J. **D-chiro-inositol: its functional role in insulin action and its deficit in insulin resistance**. Int J Exp Diabetes Res 3(1): 47-60, 2002.

LASSEN, S.F., BREINHOLT, J., OSTERGAARD, P.R., BRUGGER, R., BISCHOFF, A., WYSS, M., FUGLSANG, C.C. **Expression, gene cloning, and characterization of five novel phytases from four basidiomycete fungi : *Peniophora lycci, Agrocybe pediades, Ceriporia* sp., and *Trametes pubescens.*** Appl. Environ. Microb., p.4701- 4707, 2001.

LEAL, A.S., GONÇALVES, C.G., VIEIRA, I.F.R., CUNHA, M.R.R., GOMES, T.C.B., MARQUES, F.R. **Evaluation of mineral concentration and anti-nutritional factors phytate and oxalate in multimixtures from the Metropolitan Region of Belo Horizonte/MG**. Rev Soc Bras Alim Nutr. 35 (2):39-52, 2010.

LEI, X. G., PORRES, J. M., MULLANEY, E. J., BRINCH-PEDERSEN, H. **Phytase source, structure and applications**, In: Industrial enzymes. Structure, Function and Applications, Polaina, J., MacCabe, A. P., Eds, pp. 505-529, Springer, ISBN -78-1- 4020-5376-4, Dordrecht, The Netherlands, 2007.

LEI, X.G.; PORRES, J.M. **Phytase enzymology, applications, and biotechnology.** Biotechnology Letters, v.25, n.21, p.1787-1794, 2003.

LIN, D-Q., WU, Y-T., MEI, L-H., ZHU, Z-Q., YAO, S-J. **Modelling the proteins portioning in aqueous polymer two-phase systems: influence of polymer concentration and molecular weight.** Chemical Engineering Science (58):2963-2972, 2003.~

LIU, B., L.; RAFIQ, A., TZENG, Y.M., ROB, A. **The induction and characterization of phytase and beyond.** Enz. Microb. Technol., v.22, p.415-424, 2008.

LIU, D., GUO,Y., WANG, Z., YUAN, J. **Exogenous lysozyme influences Clostridium perfringens colonization and intestinal barrier function in broiler chickens**. Avian Pathology, v. 39, n. 1, p. 17-24, 2010.

MALHOTRA, V.K. **Biochemistry for Students**, 11, Ed. New Delhi, Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, 406 p., 2006.

MARCOS, J.C., FONSECA, L.P., RAMALHO, M.T., CABRAL, J.M.S. **Partial purification of penicillin acylase from *Escherichia coli* in poly(ethylene glycol)-sodium citrate aqueous two-phase systems**. Journal of Chromatography B (734):15-22,1999.

MARLIDA, Y., DELFITA, R., ADNADI, P., CIPTAAN, G. **Isolation, characterization and production of phytase from endophytic fungus its application for feed.** Pakistan Journal of Nutrition 9(5): 471-474, 2010.

MAYERHOFF, Z.D.V.L., ROBERTO, I.C., FRANCO, T.T. **Purification of xylose reductase from *Candida mogii* in aqueous two-phase systems**. Biochemical Engineering Journal (18):217-223, 2004.

MAZZOLA, P.G., LOPES, A.M., HASMANN, F.A., JOZALA, A.F., PENNA, T.C.V., MAGALHÃES, P.O., RANGEL-YAGUI, C.O., PESSOA JR., A. **Liquid-liquid extraction of biomolecules: an overview and update of the main techniques**. Journal of Chemical Technology and Biotechnology (83):143-157, 2008.

MEHRNOUSH, A., MUSTAFA, S., YAZID, A.M.M. **'Heat-Treatment Aqueous Two Phase System' for Purification of Serine Protease from Kesinai (Streblus Asper) Leaves**. Molecules 16: 10202-10213, 2011.

MEHRNOUSH A., MUSTAFA, S., SARKER, M.I., YAZID, A.M.M. **Optimization of Serine Protease Purification from Mango (Mangifera Indica cv. Chokanan) Peel in Polyethylene Glycol/Dextran Aqueous Two Phase System**. Int J Mol Sci 13: 3636-3649, 2012.

META, A., NAKATAKE, H., IMAMURA, T., NOZAKI, C., SUGIMURA, K. **High-yield production and characterization of biologically active recombinant aprotinin expressed in *Saccharomyces cerevisiae.*** Protein Expres. Purif., v.66, p.22-27, 2009.

MOHAMADI, H., OMIDINIA, E., DINARVAND, R. **Evaluation of Recombinant Phenylalanine Dehydrogenase Behavior in Aqueous Two-Phase Partitioning.** Process Biochem 42: 1296-1301, 2007.

MONTEIRO, P.S. **Production and biochemical characterization of *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* UFV-1 phytases and their applications in animal feed**. Doctoral thesis. Federal University of Viçosa, Minas Gerais, 2011.

NAGASHIRO, C. **Enzymes in poultry nutrition**. In: CONFERENCIA APINCO, 2007, Santos, SP. Proceedings. Santos, FACTA, 2007. p.307-327.

NALINANON; S., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., KISHIMURA, H. **Partitioning of Protease from Stomach of Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*) by Aqueous-Two Phase Systems**. Process Biochemistry (44):471-476, 2009.

NASCIMENTO, K.S., ROSA, P.A.J., NASCIMENTO, K.S., CAVADAB, B.S., AZEVEDO, A.M.; AIRES-BARROS, M.R. **Partitioning and recovery of *Canavalia brasiliensis* lectin by aqueous two-phase systems using design of experiments methodology**. Separation and Purification Technology (75):48-54, 2010.

NAVES, L.P.; RODRIGUES, P.B.; BERTECHINI, A.G.; LIMA, E.M.C.; TEIXEIRA, L.V.; ALVARENGA, R.R.; NARDELLI, N.B.S.; OLIVEIRA, D.H.; OLIVEIRA, M.H. **Phosphorus reduction in broiler diets based on phytase equivalence values.** Pesq. Agropec. Brasília, 49, n.1, p.71-77, 2014. DOI: 10.1590/S0100-204X2014000100010.

NG, H. S., OOI, C. W., MOKHTAR, M. N., SHOW, P. L., ARIFF, A., TAN, J. S., LING, T.C. **Extractive bioconversion of cyclodextrins by *Bacillus cereus* cyclodextrin glycosyltransferase in aqueous two-phase system.** Bioresource Technology, v. 142, p. 723-726, 2013.

NITSAWANG, S., HATTI-KAUL, R., KANASAWUD, P. **Purification of Papain from Carica Papaya Latex: Aqueous Two-Phase Extraction versus Two-Step Salt Precipitation.** Enzyme Microb Tech 39: 1103-1107, 2006.

NOVAKI, L. **Production, purification and partial characterization of invertase obtained by solid-state fermentation of soybeans with *Aspergillus casiellus*.** Master's thesis. State University of Western Paraná, Center for Engineering and Exact Sciences, Paraná, 2009.

OOI, C.W., TEY, B.T., HII, S.L., KAMAL, S.M.M., LAN, J.C.W. **Purification of Lipase Derived from *Burkholderia pseudomallei* with Alcohol/Salt-Based Aqueous Two-Phase Systems.** Process Biochem 44: 1083-1087, 2009.

OOI, C.W., HII, S.L., KAMAL, S.M.M.K., ARIFF, A., LING, T.C. **Extractive fermentation on using aqueous two-phase systems for integrated production and purification of extracellular lipase derived from *Burkholderia pseudomallei*.** Process Biochemistry (46):68-73, 2011.

OLIVEIRA, G.G.G., SILVA, D.P., ROBERTO, I.C., VITOLO, M., PESSOA-JUNIOR, A. **Partition behavior and partial purification of hexokinase in aqueous two-phase polyethylene glycol/citrate systems.** Applied Biochemistry and Biotechnology (105):787-797, 2003.

OLIVEIRA, A.C. **Estudo da produção de poligalacturonase por fermentação em estado sólido utilizando resíduo agroindustrial de manga (*Mangifera indica* L.).** Master's thesis, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, 2013.

OLIVEIRA, L.A., SARUBBO, L.A., PORTO, A.L.F., LIMA-FILHO, J.L., CAMPOS TAKAKI, G.M., TAMBOURGI, E.B. **Physical and rheological characterization of polyethylene glycol-cashew-nut tree gum aqueous two-phase systems.** Journal of Chromatography B (766):27-36, 2001.

OSTANIN, K., HARMS, E.H., STEVIS, P.E., ZHOU, M., VAN ETTEN, R.L. **Overexpression, site-directed mutagenesis and mechanism of *Escherichi coli* acid phosphatase.** J. Biol. Chem., v. 267, p. 22830-22836, 1992.

PANDEY, A., SZKACKS, G., SOCCOL, C.R., RODRIGUEZ-LEON, J.A, SOCCOL VT. **Production, purification and properties of microbial phytases.** Bioresource Technol. 77: 203-214, 2001.

PASAMONTES, L., HAIKER, M., WYSS, M., TESSIER, M., LOON, A.P.G.M. **Gene cloning, purification, and characterization of a heat-stable phytase from the fungus *Aspergillus fumigatus*.** Appl. Environ. Microb., v.63, p.1696-1700, 1997.

PESSOA JR., A., KOLIKIAN, B.V. **Purificação de Produtos Biotecnológicos,** Manole: São Paulo, 2005.

PORTO, T.S. **Extraction of epsilon pro-toxin from a *Clostridium perfrigens* protease in aqueous two-phase systems using PEG/citrate.** Master's thesis. University of São Paulo, Faculty of Pharmaceutical Sciences, São Paulo, 2004.

PUGH, R. **The scope for enzymes in commercial feed formulations.** Proceedings of the 9th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry, p. 369-372, 1993.

RAMACHANDRAN, S., ROOPESH, K., NAMPOOTHIRI, K.M., SZAKACS, G., PANDEY, A. **Mixed substrate fermentation for the production of phytase by *Rhizopus* spp. using oilcakes as substrates.** Process Biochem, 40:1749-1754, 2005.

REGINA, R. **Animal nutrition, main ingredients and management of poultry and pigs**. 1st edition. São Paulo. Cargill Foundation, 413 p., 2010.

REIS, A. P. **Purification, biochemical characterization and biotechnological applications of α-galactosidases from *Aspergillus terreus.*** Master's thesis. Federal University of Viçosa, 108 p., 2007.

RICHARDS, J., DIBNER, J. **Organic trace minerals are not all equally effective.** World Poultry, Doetinchem, v. 21, p. 17-19, 2005.

REIS, A. P. **Purification, biochemical characterization and biotechnological applications of α-galactosidases from *Aspergillus terreus.*** Master's thesis. Federal University of Viçosa, 108 p., 2007.

RIES, E.F. **Study of the production, characterization and application of a new phytase from *Saccharomyces cerevisiae*.** PhD thesis, State University of Campinas**,** Campinas, 2010.

RAVINDRAN, V., P. H. SELLE, G. RAVINDRAN, P. C. H. MOREL, A. K. KIES, W. L. BRYDEN. **Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet.** Poult. Sci., 80:338-344, 2001.

ROCHA, C. **Impact of different feeds on intestinal morphological structure and nutrient digestibility in chickens.** Doctoral thesis. Postgraduate course in veterinary sciences. Federal University of Paraná, 168 p. 2014.

ROOPESH, K.; RAMACHANDRAN, S.; NAMPOOTHIRI, M.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. **Comparison of phytase production on wheat bran and oilcakes in solidstate fermentation by *Mucor racemosus*.** Bioresource Technology 97(3):506-511, 2006.

ROSA, P.A.J., AZEVEDO, A.M., AIRES-BARROS, M.R. **Application of central composite design to the optimization of aqueous two-phase extraction of human antibodies**. Journal of Chromatography A (1141): 50-60, 2007.

RUTHERFURD, S. M., T. K. CHUNG, D. V. THOMAS, M. L. ZOU, AND P. J. MOUGHAN. **Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers.** Poult. Sci. 91:1118-1127, 2012.

SAKOMURA, N.K., SILVA, J.H.V., COSTA, F.G.P., FERNANDES, G.P.C., FERNANDES, J.B.K., HAUSCHILD, L. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Ed. FUNEP, 2014.

SALMON, D.N.X. **Development of a bioprocess for the production, characterization and recovery of phytase from *Schizophyllum commune* obtained by solid-state fermentation**. Master's dissertation. Federal University of Paraná, Curitiba, 2011.

SANO, K., FUKUHARA, H., NAKAMURA, Y. **Phytase of the yeast *Arxula adeninivorans.*** Biotechnol. Lett., v.21, p.33-38, 1999.

SEGUEILHA, L., LAMBRECHTS, C., BOZE, H., MOULIN, G., GALZY, P. **Purification and properties of the phytase from *Schwanniomyces castelli.*** J. Ferment. Bioeng., v.74,p.7-11, 1992

SELLE, P.H., RAVINDRAN, V. **Microbial phytase in poultry nutrition**. Anim. Feed Sci. Tech.135: 1-41, 2006.

SELLE, P.H., WALKER, A.R., BRYDEN, W.L. **Total and phytate-phosphorus contents and phytase activity of Australian-sourced feed ingredients for pigs and poultry.** Australian Journal of Experimental Agriculture, v.43, p. 475-479, 2003.

SHANG, Q.K., LI, W., JIA, Q., LI, D.Q. **Partitioning of behavior of amino acids in aqueous two phase systems containing polyethylene glycol and phosphate buffer.** Fluid Phase Equilibria, v. 219, p. 195-203, 2004.

SHANKAR, S.K., MULIMANI, V.H. α-Galatosidase production by ***Aspergillus orizae*** **in solid-state fermentation.** Bioresource Technology *(*98):958-961, 2007.

SHIEH, T.R., WARE, J.H. **Survey of microorganisms for the production of extracellular phytase.** Appl. Microbiol., p.1348-1351, 1968.

SHIMIZU, M. **Purification and characterization of phytase and acid phosphatase produced by *Aspergillus oryzae* K1.** Biosci., Biotechnol., Biochem., v. 57, p.1354-1365, 1993.

SILVA, Y.L. **Reduction of protein and phosphorus levels in feed with phytase for broilers: performance, digestibility and nutrient excretion.** Lavras: Federal University of Lavras, 2004. 228p. Thesis (Doctorate in Zootechnics), 2004.

SILVA, L.M., GERALDO, A., VIEIRA FILHO, J.A. **Association of carbohydrase and phytase in diets for semi-heavy layers.** Acta Scientiarum, v.34, n.3, p.253-258, 2012.

SILVERSIDES, .FG., HRUBY, M. **Feed formulation using phytase in laying hen diets.** Journal of Applied Poultry Research, v. 18, n. 1, p. 15-22, 2009.

SIMON, L.; OTTO, H. **Aqueous Two-phase extraction - a case study in process analysis and control.** AIChE AnnualMeeting, Cincinnati, OH., p. 237, 2005.

SLIVINSKI, C.T. **Production, partial purification and biochemical characterization of glucoamylase from *Aspergillus niger* obtained by solid-state fermentation.** Master's thesis. State University of Ponta Grossa, 128p., 2007.

SLOMINSKI, B.A. **Recent advances in research on enzymes for poultry diets.** Poultry Science, v.90, p.20132023, 2011. DOI: 10.3382/ps.2011-01372.

SOETAN, K.O.; OYEWOLE, O.E. **The need for adequate processing to reduce the anti-nutritional factors in plants used for human food and animal feeds - a rewiew.** African Journal of Food Science, Victoria Island, v.4, n.5, p. 200-222, 2010.

SOETAN, K.O., OYEKUNLE, M.A., AIYELAAGBE, O.O., FAFUNSO, M.A. **Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum bicolor* L.** Moench. Afr. J. Biotechnol., 5 (23):2405-2407, 2010.

SORIO, A., BRAGA, F., LIMA, F., MAIA, G., RASI, L., DALLONDER, L.O. **Technical and economic feasibility study for the implementation of a national production park for additives in the livestock feed industry.** Méritos Editora, 2012.

SOUZA, F.A.S.D. **Production, partial purification by Extractive Fermentation in a Two-Phase Aqueous System (SDFA) and biochemical characterization of fibrinolytic enzymes from *Bacillus amyloliquefaciens* UFPEDA**. Doctoral thesis. Federal University of Pernambuco, 2014.

SPIER, M.R., SCHEIDT, G.N., PORTELLA, A.C., RODRÍGUEZ-LEÓN, J.A., WOICIECHOWSKI, A.L., GREINER, R., SOCCOL, C.R. **Increase in Phytase Synthesis During Citric Pulp Fermentation.** Chemical Engineering Communications, v. 198, p. 286 - 297, 2011.

SUZUKI, U., YOSHIMURA, K., TAKASHI, M. **Ueber ein Enzym, "Phytase" das "Anhydro-Oxymwthylen diphosphorsaure" Spaltet.** Tokyo Imper. Univ. Coll. Bull., v.7, p.503-512, 1908.

TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F., GOMPERTZ, O. F., CANDEIAS, J.R. **Microbiologia,** 3ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

UENOJO, M,; PASTORE, G.M. **Pectinases: industrial applications and perspectives.** Chem. Nova, vol.30 no.2, 2007.

ULLAH, A.H.L., GIBSON, D.M. **Purification and characterization of acid phosphatase from cotyledons of germinating soybean seeds.** Arch. Biochem., v.260, p.514-520,1986.

VASSILEV, N., VASSILEVA, M., BRAVO, V., FERNANDEZ-SERRANO, M., NIKOLAEVA, I. **Simultaneous phytase production and rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on dry olive wastes**. Ind. Crop. Prod., v.26, p.332-336, 2007.

VATS, P., BANERJEE, U.C. **Production studies and catalytic properties of phytases (myoinositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview**. Enzyme Microb. Tech. 35:3-14, 2004.

VATS, P., BANERJEE, U.C. **Catalytic characterization of phytase (myoinosylhexakisphosphate phosphohydrolase) from *Aspergillus niger* van Teighem: Glycosylation pattern, kinetics and molecular properties.** Enz. Microb. Technol., v.39, p.596-600, 2006.

VALLE, F.L.P. **Use of phytase in commercial diets for broilers containing or not an ingredient of animal origin.** Master's dissertation, Federal University of Paraná. Curitiba, 2010.

VOHRA, A., SATYANARAYANA, T. **Phytase production by the yeast *Pichia anomala.*** Biotechnol. Lett., v.13, p.551-554, 2002.

YIN, Q.Q., ZHENG, Q.H., KANG, X.T. **Biochemical characteristics of phytases from fungi and the transformed microorganism.** Animal Feed Science and Technology, v.132, p.341-350, 2007.

XIANG, T., LIU, Q., DEACON, A.M., KOSHY, M.K., LEI, X.G., HAO, Q., THIEL, D.J. **Crystal structure of a heat-resilient phytase from *Aspergillus fumigatus,* carrying a phosphorylated histidine.** J. Mol. Biol. 339:437-445, 2004.

ZHOU, Y., HU, C., WANG, N., ZHANG, W., YU, X. **Purification of Porcine Pancreatic Lipase by Aqueous Two-Phase Systems of Polyethylene Glycol and Potassium Phosphate.** J Chromatogr B, 926: 77- 82, 2013.

# ZOOBIQUIDADE E ONE HEALTH: UMA INTERSEÇÃO ENTRE AS MEDICINAS VETERINÁRIA E HUMANA

*Data de aceite: 01/02/2024*

**Deivid Borges Bittar**
Estudante de Graduação 10º período do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM

**Norma Aparecida Borges Bitar**
Professor Orientador. Bióloga; Mestre. Universidade Estadual de Minas Gerais - UEMG

**Matheus Matioli Mantovani**
Segundo membro da banca. Veterinário; Doutor. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMZV-USP

**Vera Lucia Pichioni Rezende**
Terceiro membro da banca. Veterinária; Especialista. Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como pré-requisito para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária do Centro Universitário de Patos de Minas.

**RESUMO** - Tanto a Zoobiquidade quanto a oncologia comparada são áreas multidisciplinares em expansão nos últimos anos, pois estudam os riscos de neoplasmas e o seu desenvolvimento em diferentes espécies, com o objetivo de ampliar o conhecimento destas doenças. Os cânceres caninos são considerados fisiopatologicamente e clinicamente equivalentes aos humanos, ocorrendo de forma espontânea. O câncer de mama representa o câncer mais hegemônico e a principal causa de óbito por câncer em mulheres em todo o mundo. O estudo dos neoplasmas é de grande relevância tanto na medicina humana quanto na veterinária devido ao aumento preocupante de sua incidência nas últimas décadas. Sendo assim, o objetivo geral desse estudo foi identificar morfologias e quantidades de tumores mamários de cadelas e de mulheres e correlacionar tumores mamários nas mesmas espécies, além de verificar e validar, ou não, o conceito de modelo sentinela em cães com neoplasias mamárias. Trata-se de um estudo do tipo descritivo, transversal, com abordagem quali-quantitativa, desenvolvido no período de janeiro a junho de 2020, utilizando 85 fichas e laudos histopatológicos de biópsia de tumores de glândula mamária de cadelas, de duas clínicas veterinárias particulares do município de Patos de Minas/ MG. Dentro das alterações neoplásicas, 21

eram benignas (24,70%) e 53 eram malignas (62,35%). A neoplasma mais prevalente foi o carcinoma simples (41,50%), seguido do carcinoma complexo (24,53%). Em relação aos tumores benignos, observou-se a prevalência de tumor misto benigno. A hipótese do cão, como animal sentinela para tumores mamários em mulheres não foi validada, pois não houve correlação entre cães com tumores e seus respectivos tutores.
**PALAVRAS-CHAVE:** Neoplasma. Sentinela. Zoobiquidade.

## ZOOBIQUITY AND ONE HEALTH: AN INTERSECTION BETWEEN VETERINARY AND HUMAN MEDICINES

**ABSTRACT** - Zoobiquity and comparative oncology are multidisciplinary areas that have been expanding in recent years, as they study the risks of neoplasms and their development in different species, with the aim of expanding the knowledge of these diseases. Canine cancers are considered physiopathologically and clinically equivalent to humans, occurring spontaneously. Breast cancer represents the most hegemonic cancer and the leading cause of cancer death in women worldwide. The study of neoplasms is of great relevance in both human and veterinary medicine due to the worrying increase in their incidence in recent decades. Thus, the general objective of this study was to identify morphologies and quantities of breast tumors in dogs and women and to correlate breast tumors in the same species, in addition to verifying and validating, or not, the concept of sentinel model in dogs with breast neoplasms. This is a descriptive, cross-sectional study, with a qualitative and quantitative approach, developed from January to June 2020, using 85 records and histopathological reports of biopsy of mammary gland tumors in dogs, from two private veterinary clinics in Patos de Minas / MG. Within the neoplastic changes, 21 were benign (24.70%) and 53 were malignant (62.35%). The most prevalent neoplasm was simple carcinoma (41.50%), followed by complex carcinoma (24.53%). Regarding benign tumors, the prevalence of mixed benign tumors was observed. The hypothesis of the dog as a sentinel animal for breast tumors in women has not been validated, as there was no correlation between dogs with tumors and their respective tutors.
**KEYWORDS:** Neoplasm. Sentinel. Zoobiquity.

## 1 | INTRODUÇÃO

Tanto a Zoobiquidade quanto a oncologia comparada são áreas multidisciplinares em expansão nos últimos anos, pois estudam os riscos de neoplasmas e o seu desenvolvimento em diferentes espécies, com o objetivo maior de ampliar o conhecimento destas doenças (SCHIFFMAN, BREEN, 2015).

Os cânceres caninos são considerados fisiopatologicamente e clinicamente equivalentes aos humanos, ocorrendo de forma espontânea. De fato, a esperança de vida canina ser mais curta tem por consequência um menor período de latência entre a exposição a agentes de risco e o desenvolvimento da neoplasia, permitindo inferir que o estudo destes neoplasmas em cães abrevie a avaliação de novas técnicas de diagnóstico, tratamento e prevenção atuando os cães como modelos sentinela de alertas para perigos

ambientais sobre a saúde humana. A coabitação próxima entre cães e seres humanos coloca os primeiros numa posição privilegiada e mais aproximada à realidade humana, quando comparados com os tradicionais modelos murinos, podendo fornecer uma poderosa fonte de informação para o estudo dos neoplasmas (REIF, 2011).

O câncer de mama representa o câncer mais hegemônico e a principal causa de óbito por câncer em mulheres em todo o mundo (FERLAY et al., 2015). Apesar do progresso considerável no tratamento do câncer de mama, o prognóstico no cenário infiltrativo e metastático permanece fraco. A sobrevida específica em cinco anos após o diagnóstico inicial foi estimada em 97% para o estágio I, 88% para o estágio II, 70% para o estágio III e apenas 25% para o câncer de mama em estágio IV (MACIÀ et al., 2012). Um dos desafios atuais é definir ferramentas e modelos experimentais imprescindíveis que possam prever a resposta e a potencial resistência a terapias.

Os modelos clássicos *in vitro* (linhas de células tumorais) e *in vivo* (autoenxertos, homoenxertos, xenoenxertos) têm limitações relacionadas à dificuldade de reproduzir interações com o microambiente, o padrão metastático ausente ou incompleto e sua incapacidade de integrar totalmente a resposta imune do hospedeiro (VARGO-GOGOLA et al., 2007). Modelos de neoplasmas espontâneos, naturais, são, portanto, de grande interesse, para estudar a farmacocinética de terapêuticas inovadoras *in vivo*, seus efeitos no tumor e no paciente – metástase - e nas interações entre as células tumorais e seu microambiente. A este respeito, os tumores espontâneos caninos parecem particularmente relevantes para a oncologia humana (PAOLONI et al., 2008).

Apesar de, sua prevalência diminua nas regiões onde a ovariohisterectomia (OH) preventiva precoce é realizada rotineiramente, os carcinomas mamários caninos continuam sendo o câncer preponderante (MERLO et al., 2008). Publicações recentes descrevem a importância dos carcinomas mamários caninos espontâneos como modelos de câncer de mama humano, devido a semelhanças na idade relativa de início, à sua alta incidência, comportamento biológico e padrão metastático (PINHO et al., 2012). No entanto, o comportamento biológico dos mesmos precisa de uma avaliação mais aprofundada. De acordo com Benjamin et al. (1999), poucos estudos trataram da história natural dos carcinomas mamários caninos, ou seja, o resultado de cães após mastectomia como terapia ímpar.

Na obra “Zoobiquidade: o que os animais podem nos ensinar sobre saúde e a ciência de cura”, as autoras observam: “Num mundo onde nenhuma criatura está verdadeiramente isolada e as doenças se espalham tão rapidamente como os jatos podem voar, somos todos os canários e todo o planeta é a nossa mina de carvão. Qualquer espécie pode ser uma sentinela de perigo, mas apenas se a ampla gama de profissionais de saúde estiver a prestar atenção” (NATTERSON-HOROWITZ; BOWERS, 2012).

Cada vez mais há uma conscientização sobre a necessidade crítica de abordar problemas de saúde e alcançar objetivos numa perspectiva holística, considerando a

interface entre a saúde do animal, a saúde do homem e o ecossistema, que caracteriza a essência do conceito “One Health” em que esses três campos são interdependentes e interligados (EVANS; LEIGHTON, 2014).

O estudo dos neoplasmas é de grande relevância tanto na medicina humana quanto na veterinária devido ao aumento preocupante de sua incidência nas últimas décadas. Assim como os humanos, os neoplasmas mamários em cães são mais frequentes nos animais mais velhos, com maior predomínio em fêmeas (FERLAY et al., 2015). Os cânceres são também similares entre as duas espécies nos aspetos de morfologia celular, de genética e características clínicas. Por esse fato, as classificações utilizadas na medicina veterinária são adaptações da humana (ITO et al., 2014).

Os riscos ambientais de saúde são todos os contaminantes, naturais ou não, presentes no ar, na água, no solo ou na comida, que podem causar danos, agudos ou crônicos, na saúde dos seres humanos (SHAN; TAN, 2017). Após as intensas modificações advindas da revolução industrial e intensa urbanização, os poluentes como a poluição advinda da combustão de combustíveis fósseis, das indústrias e principalmente do tabaco, são de longe o que mais danos causam à saúde humana e animal. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o tabaco é o maior perigo de hábito à saúde humana (OMS-GUIDELINE, 2006).

Desta forma a comparação entre as espécies canina e humana pode fornecer várias informações a respeito de possíveis fatores de risco ambiental e de hábito e revelar evidências que contribuam para o melhor entendimento das causas de tumores em ambas, o que é imperioso para o meio acadêmico-científico e para a sociedade.

A partir das fichas e laudos histopatológicos, o objetivo geral desse estudo foi identificar morfologias e quantidades de tumores mamários de cadelas e de mulheres. Na perspectiva *one health*, foi relacionar fontes de potenciais riscos carcinogênicos, considerando hábito diário, farmacoterapia hormonal e patologias específicas em ambas as espécies. Na oncologia comparada, foi descrever os principais tipos de tumores mamários em ambas as espécies, quantificar e correlacionar tumores mamários em cadelas e mulheres, além de verificar e validar, ou não, o conceito de modelo sentinela em cães com neoplasias mamárias.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Ética da pesquisa

Atesto para os devidos fins que o projeto intitulado “ ZOOBIQUIDADE E “ONE HEALTH”: UMA INTERSEÇÃO ENTRE AS MEDICINAS VETERINÁRIA E HUMANA”, trabalho sob a orientação do professor D.Sc. Dalton César Milagres Rigueira foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Patos de Minas –

UNIPAM, sob o número de protocolo 31/20, tendo sido considerado aprovado para execução, conforme metodologia apresentada, e arquivado junto a esse comitê, em 06 de outubro de 2020.

## 2.2 Delineamento experimental

### *2.2.1 Amostragem em cadelas*

Trata-se de um estudo do tipo descritivo, transversal, com abordagem quali-quantitativa, desenvolvido no período de janeiro a junho de 2020.

Foram utilizados 85 fichas e laudos de exames histopatológicos de biópsia de tumores da glândula mamária de cadelas, de duas clínicas veterinárias particulares do município de Patos de Minas/MG. Informações quanto à raça, à idade, ao score corporal e ao diagnóstico morfológico foram extraídas dos protocolos de exames histopatológicos e respectivas fichas clínicas.

Sempre que informados, a ocorrência de pseudociese e o uso de contraceptivos foram também computados.

Quanto à idade, os cães foram agrupados em três grandes grupos: filhotes (menos de um ano), adultos (de um a nove anos) e idosos (dez anos ou mais).

Foram considerados como 'tumores mamários' todos os distúrbios do crescimento da glândula mamária, tanto os neoplásicos (compreendendo neoplasmas benignos e malignos) como os não neoplásicos (compreendendo as alterações hiperplásicas: hiperplasias, cistos, ectasia ductal e fibroesclerose).

Neste estudo, foram considerados os diagnósticos morfológicos que constavam nos protocolos originais, buscando-se, quando necessário, a padronização dos mesmos com o sistema atual de classificação dos tipos histológicos, conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde - Armed Forces Institute of Pathology (OMS-AFIP) (MISDORP et al., 1999).

Após a classificação dos tumores, foi calculada a prevalência de cada tipo histológico em relação ao total de tumores mamários diagnosticados.

### *2.2.2 Amostragem em mulheres*

Este estudo baseia-se em análise descritiva com abordagem quantitativa de portadoras de câncer de mama.

A forma de escolha deste grupo de pacientes consistiu no método de amostragem intencional, por se enquadrarem nos critérios de elegibilidade apresentados a seguir. O critério de elegibilidade para este estudo consiste em pacientes que possuem ou possuíram cães portadores de neoplasias mamárias.

De posse das fichas e laudos histopatológicos caninos, foi feita uma entrevista com

os respectivos tutores a despeito de hábitos diários (uso de tabaco), obesidade e uso de farmacoterapia hormonal (contraceptivos e terapia de reposição hormonal).

### 2.3 Análise estatística

Para analisar os resultados dos tumores mamários, foi observada a distribuição normal dos dados por meio dos pressupostos de normalidade e homogeneidade.

Para a homogeneidade de variâncias utilizou-se o Teste de Levene e para a normalidade de dados utilizou-se o Teste de Shapiro Wilk e o gráfico Q-Q Plot. Em seguida, foi realizado o teste de Tukey para determinar se existe, ou não, diferença estatística entre as médias dos tipos de tumores mamários. Os resultados foram ilustrados por meio de gráficos '*boxplo*t', ressaltando a presença ou ausência de entalhes, que indicam o intervalo de confiança das medianas e se elas são, estatisticamente, diferentes ou semelhantes. Se não houver sobreposição dos entalhes, as medianas tendem a ser diferentes. Se houver sobreposição dos entalhes, as medianas tendem a ser semelhantes. Ademais, para cada tipo de tumor foi criado um gráfico em coluna, exibindo os tipos morfologicamente encontrados e suas respectivas quantidades.

Todas as análises estatísticas foram elaboradas utilizando-se o software RStudio, versão 3.6.1.

## 3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Tipos, morfologia e quantidade de tumores em cadelas

As 85 fichas e laudos de exames histopatológicos de biópsia de tumores da glândula mamária de cães foram analisados. Dentro das alterações neoplásicas 21 (24,70%) eram benignas e 53 (62,35%) eram malignas. Dados semelhantes a este estudo foram reportados por outros autores brasileiros, nos quais a prevalência dos neoplasmas malignos variou entre 68% e 91% (DE NARDI et al., 2002; MARTINS et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003). Estudos baseados na submissão de exames a laboratórios tendem a apresentar maior prevalência de neoplasmas malignos, uma vez que muitos nódulos mamários pequenos, não são removidos ou remetidos aos laboratórios pelos médicos veterinários e tutores (MORRIS et al, 1998). Outra possível causa para a alta prevalência de neoplasmas malignos no estudo é o tempo prolongado entre o aparecimento do tumor e a avaliação clínica (OLIVEIRA et al., 2003). Há evidências de que o tempo prolongado possibilita a progressão de tumores benignos para malignos (SORENMO et al., 2009).

Cronologicamente a idade variou de 1,3 ano a 16 anos e a média de idade foi de 9,2 anos. Filhotes não foram acometidos e 15 casos não tiveram a idade informada. Assim, das 85 cadelas que tiveram suas idades informadas, 49 (57,65%) eram adultas e 36 (42,35%) eram idosas. Estes dados são corroborados por Fighera et al. (2008), que

descrevem que cães adultos são 1,2 vezes mais prevalentes do que filhotes e 3,1 vezes mais prevalentes que cães idosos. A média de idade descrita para a manifestação dos tumores mamários está entre 10 e 11 anos (RUTTEMAN et al., 2001), porém médias mais baixas (entre 7,3 e 9,5 anos) já foram relatadas (EGENVALL et al., 2005; STRATMANN et al., 2008; SORENMO et al., 2009).

Outro dado importante foi que cães idosos tiveram mais neoplasmas malignos (75%) que os adultos (65,3%). A média de idade dos cães com neoplasmas malignos também foi maior (9,2 anos) que a dos com neoplasmas benignos (8,1 anos). Relação semelhante também foi relatada por outros autores (OLIVEIRA et al., 2003; SORENMO et al., 2009).

Os neoplasmas malignos foram mais prevalentes em cães das raças, quando informadas: Poodle, Cocker Spaniel, Duchshund, Pastor alemão e Pinscher. A prevalência das raças mais acometidas neste estudo fica limitada, pois não se conhece a população canina total da área. Entretanto, algumas observações são relevantes. Quatro das cinco raças supracitadas foram apontadas como tendo maior risco de desenvolvimento de tumores mamários em um estudo de Sorenmo (2003). Entretanto, estas são raças muito prevalentes em nossa cidade e isso pode, talvez, apenas refletir a população estudada.

Dentre as raças mais prevalentes, 72,2% dos neoplasmas de Pastores Alemães foram malignos, enquanto que apenas 52,3% foram malignos em Poodles. Acredita-se que isso se deve, em parte, ao contato mais próximo de cães de raças pequenas com os proprietários, possibilitando a detecção mais precoce de nódulos mamários, o que favoreceria o diagnóstico de alterações benignas. Esse raciocínio leva em conta que muitos tumores benignos são pequenos no momento do diagnóstico e também o princípio da malignização dos neoplasmas benignos (SORENMO et al., 2009).

As nomenclaturas morfológicas e a quantidade de neoplasmas malignos estão explicitadas no gráfico 1.

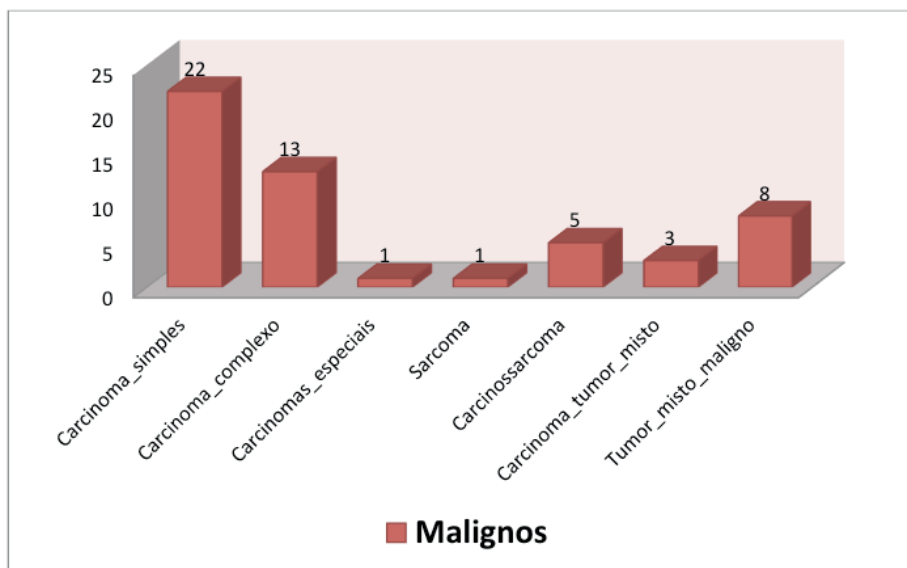



Gráfico 1 – Morfologia e quantidade de neoplasmas malignos, diagnosticados em glândulas mamárias de cadelas, em duas clínicas veterinárias particulares de Patos de Minas-MG, no período de janeiro a junho de 2020.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

O neoplasma mais prevalente foi o carcinoma simples (41,50%), seguido do carcinoma complexo (24,53%). A alta prevalência de carcinomas simples e complexos também foi observada em outros estudos (ZUCCARI et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2003). Prevalência bem mais alta para o carcinoma simples também foi relatada por Karayannopoulou et al. (2005).

Em seguida, observou-se a presença de tumores mistos (15,1%). As neoplasias com mais de um tipo de célula, mas decorrentes de apenas uma camada germinativa, são denominadas ‘tumores mistos’. Um tumor misto é um tumor que deriva de vários tipos de tecidos. Os tumores mistos são definidos pela presença de uma mistura (pelo menos 33%) de componentes glandulares e tumores neuroendócrinos em um único tumor. O melhor exemplo é o tumor misto benigno, também chamado de adenoma pleomórfico.

As nomenclaturas morfológicas e quantidade de neoplasmas benignos estão citadas, posteriormente, no gráfico 2.

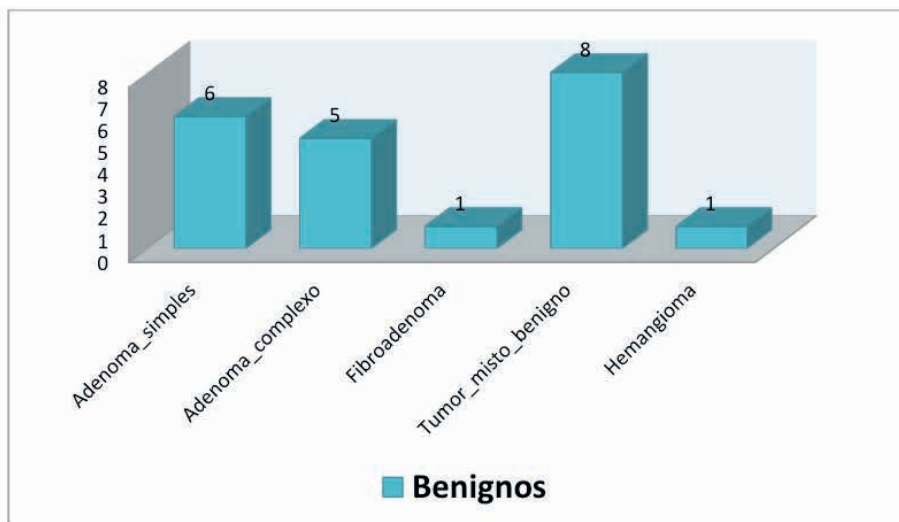



Gráfico 2 – Morfologia e quantidade de neoplasmas benignos, diagnosticados em glândulas mamárias de cadelas, em duas clínicas veterinárias particulares de Patos de Minas-MG, no período de janeiro a junho de 2020.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Em relação aos tumores benignos, observou-se que a prevalência de tumor misto benigno foi de 38,1%, seguido de adenomas simples (28,57%) e adenomas complexos (23,81%). Os demais foram fibroadenoma e hemangioma, ambos com 4,76%.

Os tumores mistos benignos são caracterizados pela proliferação benigna de células morfologicamente semelhantes a componentes epiteliais (luminais ou mioepiteliais) e células mesenquimais que produziram cartilagem e/ou tecido ósseo e/ou tecido adiposo eventualmente em combinação com tecido fibroso. A presença de medula óssea com tecido hematopoético e tecido adiposo de permeio pode ser observada em alguns casos.

O adenoma é uma neoplasia benigna de células bem diferenciadas, epiteliais ou mioepiteliais. Aqueles tumores compostos de células epiteliais bem diferenciadas são classificados como tubulares do tipo simples. No cão, os crescimentos sólidos compostos por células fusocelulares são designados como mioepiteliomas, podendo requerer imuno-histoquímica para p63 para confirmação (MORRIS; DOBSON, 1998).

As hiperplasias identificadas nos 85 laudos foram de 11 casos divididos em 5 tipos. Estas hiperplasias foram diagnosticadas e transcritas no Gráfico 3, representado a seguir.

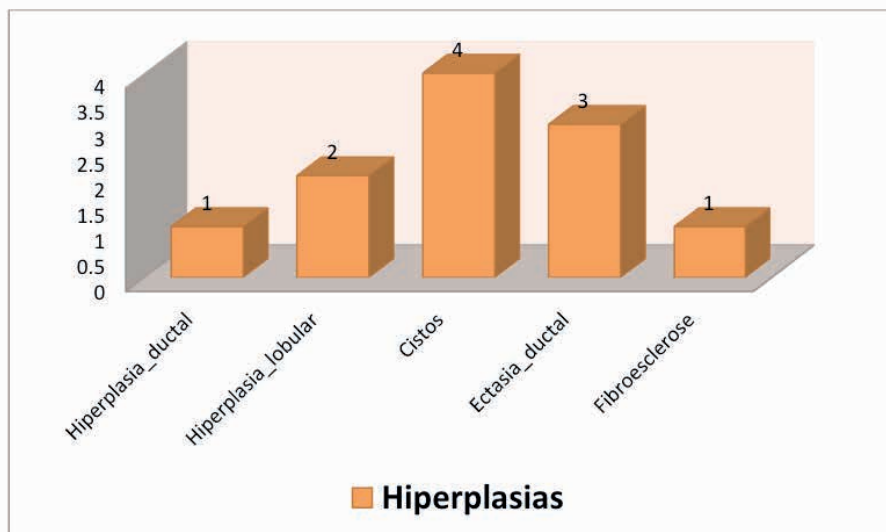



Gráfico 3 – Morfologia e quantidade de hiperplasias, diagnosticadas em glândulas mamárias de cadelas, em duas clínicas veterinárias particulares de Patos de Minas-MG, no período de janeiro a junho de 2020.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Pode-se perceber que os tipos de hiperplasias analisados nos laudos foram os seguintes: cistos, 4 casos (36,36%), ectasia ductal, 3 casos (27,27%), hiperplasia lobular, 2 casos (18,18%) e hiperplasia ductal e fibroesclerose, ambas com 1 caso (9,09%) apenas.

A hiperplasia mamária é encontrada, mais comumente, em cadelas jovens não castradas, mas também pode ser encontrada em cadelas prenhes ou em fêmeas tratadas com progestina, como o acetato de medroxiprogesterona (LORETTI et al., 2005; MACDOUGALL, 2003).

Na hiperplasia mamária, uma grande característica evidente é o crescimento rápido da(s) glândula(s) que pode vir acompanhado de ulceração, sangramento e necrose. A linfonodomegalia pode acompanhar os quadros mais graves consequentes à estagnação do sangue (OLIVEIRA, 2015).

As mamas abdominais caudais e inguinais são as mais acometidas na hiperplasia mamária, em virtude do maior tamanho tecidual, contribuindo com o diagnóstico diferencial de neoplasias mamárias; e necessitando também de palpação minuciosa, pois a identificação de tumores pequenos pode ser dificultada (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

## 3.2 Influência da progesterona em tumores mamários em cadelas

Neste estudo, não foram computados os casos em que a castração foi realizada simultaneamente com a biópsia mamária, mas essa prática se mostrou frequente durante a

avaliação dos protocolos. O índice de risco de desenvolvimento de neoplasmas mamários varia entre cadelas castradas e não-castradas e depende ainda da fase em que a castração é efetuada (FONSECA; DALECK, 2000). A ováriohisterectomia (OH) realizada antes do primeiro estro reduz o risco de desenvolvimento de neoplasmas mamários para 0,5%; este risco aumenta significativamente nas fêmeas esterilizadas após o primeiro (8,0%) e o segundo (26%) ciclos estrais (RUTTEMAN et al., 2001). Os benefícios da castração desaparecem se a mesma for realizada após os dois anos e meio de idade, ou após o terceiro ciclo estral, quando nenhum efeito é obtido pela OH (FONSECA; DALECK, 2000).

Pseudociese foi relatada em um caso (11,76%). Dados sobre a relação da pseudociese com o desenvolvimento de tumores mamários são conflitantes (MISDORP, 2002). Estudos comparativos de Morris et al. (1998), afirmam que a pseudociese não tem nenhuma relação com o desenvolvimento de neoplasmas mamários.

O uso de contraceptivos foi informado em nove casos (10,59%). Destes, 68% apresentaram neoplasmas malignos e 30%, neoplasmas benignos. De acordo com Misdorp (2002), o tratamento prolongado com progesterona ou progestinas sintéticas está associado ao aumento do número de casos de hiperplasias e neoplasmas benignos de mama. A administração de progestinas combinadas a estrógenos ou de altas doses de progesterona estão associadas particularmente à ocorrência de neoplasmas malignos.

## 3.3 Tipos, morfologia e quantidade de tumores em mulheres

Das 85 fichas e laudos histopatológicos, conseguimos comunicação com 23 tutores do sexo feminino. A idade das mesmas foi mínima de 26 anos e máxima de 62 anos. A média foi de 37 anos e a mediana foi de 38 anos. Dessas, oito (54,78%) eram usuárias de tabaco, três (13,04%) tinham obesidade grau I (IMC- kg/$m^2$ – 30 a 35) e nove (39,13%) faziam uso de contraceptivos orais. Nenhuma delas fazia uso de terapia de reposição hormonal (TRH) e não foram detectados tumores mamários em nenhuma das entrevistadas. Isto se deve ao fato do baixo n amostral, de uma coleta de dados insuficiente, ou que realmente o cão não é considerado um animal sentinela para tumores mamários em mulheres.

## 3.4 Análise Estatística dos dados

### *3.4.1 Normalidade de dados*

A suposição de normalidade dos dados amostrais é uma condição exigida para a realização de muitas inferências válidas a respeito de parâmetros e dados. O gráfico número 4, de normalidade Q-Q Plot, apresenta essa possível simetria dos dados.

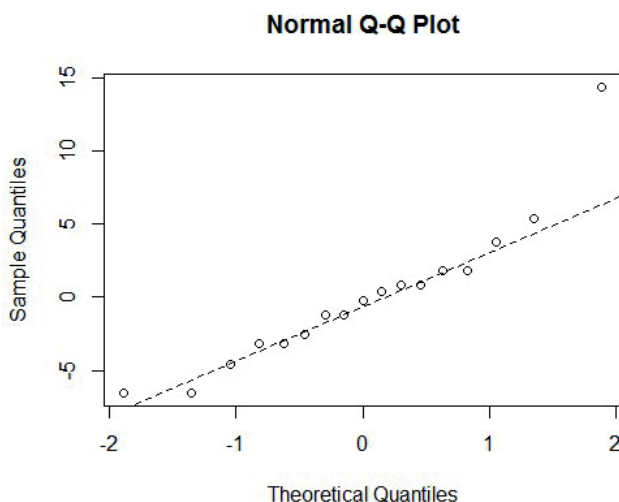



Gráfico 4 – Distribuição normal dos dados de tumores mamários de cadelas por meio dos pressupostos da normalidade. 2020.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

O gráfico de normalidade Q-Q Plot mostra que os dados estão bem distribuídos, sem variações extremas em um dado e outro. Os pontos estão sobrepostos ou bem próximos à linha tracejada de normalidade. A normalidade dos dados também é verificada pela observação de pontos acima, abaixo, à esquerda e à direita da linha tracejada de normalidade.

### *3.4.2 Teste de Shapiro Wilk*

Aqui, para fins didáticos, foi gerada uma amostra de tamanho 85 (número de fichas e laudos) de uma variável aleatória X~N(μ=1,σ2=0.16)X~N(μ=1,σ2=0.16). Neste caso a hipótese a ser testada é se os dados seguem uma distribuição gaussiana.

Shapiro-Wilk normality test

data: Quantidade[Classificacao == "Benignos"]

W = 0.88482, **p-value = 0.3317**

data: Quantidade[Classificacao == "Malignos"]

W = 0.8635, **p-value = 0.1627**

data: Quantidade[Classificacao == "Hiperplasias"]

W = 0.90202, **p-value = 0.4211**

O valor de p, em todos os tipos de tumores mamários obtiveram valores acima de 0,05, o que representa distribuição normal dos dados, seguindo os pressupostos desejados.

### *3.4.3 Teste de Lavene*

O teste de Lavene é usado para verificar a homogeneidade das variâncias.

Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)

Df F value Pr(>F)

group **2** 2.1024 **0.1591**

O valor de p foi de 0.1591, maior que 0,05 com Df (degree of freedom) igual a 2 representando teste positivo com variâncias homogêneas.

### *3.4.4 Teste de Tukey*

Tukey multiple comparisons of means

95% family-wise confidence level

| | diff | lwr | upr | p adj |
|---|---|---|---|---|
| Hiperplasias-Benignos | -2.000000 | -10.818269 | 6.818269 | 0.8257469 |
| Malignos-Benignos | 3.371429 | -4.792702 | 11.535559 | 0.5408446 |
| Malignos-Hiperplasias | 5.371429 | -2.792702 | 13.535559 | 0.2318085 |

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

Classificacao 2 88.7 44.34 1.562 **0.244**

Residuals 14 397.3 28.38

O teste de Tukey analisa a diferença entre mais de duas médias. Dessa forma os pares: hiperplasias-benignos, malignos-benignos e malignos-hiperplasias tiveram médias estatisticamente iguais com valor de p=0,244.

Este dados podem ser melhor visualizados em boxplot, como mostra o gráfico 5.

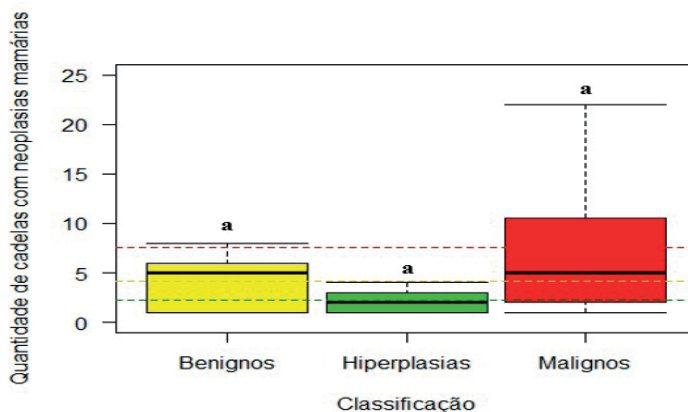



Gráfico 5 – Quantidade de cadelas com tumores mamários por tipo em gráfico Boxplot apresentando média, mediana, entalhes e whiskers. 2020.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

Caixas acompanhadas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey com 95% de confiabilidade. Houve presença dos três tipos tumorais com preponderância do neoplasma maligno. A média de tumores mamários malignos, benignos e hiperplasias foram 7,57; 4,2 e 2,2 respectivamente.

Dos 85 casos computados de tumores mamários, 87,8% de cães tiveram apenas um tipo histológico de tumor, 10,3% tiveram dois tipos histológicos de tumores e 1,9% tiveram mais de dois tipos histológicos de tumores. Desses, 74 (87,06%) eram neoplásicos e 11 (12,94%) eram não-neoplásicos, constituídos principalmente por hiperplasias mamárias. Este resultado assemelha-se a um estudo realizado no Brasil, no qual lesões não-neoplásicas acometeram apenas 5% dos casos de tumores de mama em cães (MARTINS et al., 2002).

## 4 I CONCLUSÃO

O número de neoplasmas malignos foi maior que o número de neoplasmas benignos com a média de idade dos primeiros também superior. Houve correlação positiva entre o tamanho dos nódulos e a malignidade, sendo o carcinoma simples o tipo histológico mais prevalente. A hipótese do cão, como animal sentinela para tumores mamários em mulheres não foi validada, pois não houve correlação entre cães com tumores e seus respectivos tutores.

## REFERÊNCIAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Perfil da Pecuária no Brasil – Relatório Anual 2016**. 2016. Disponível em <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>. Acesso 04 jan. 2019.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira –** 25. ed. São Paulo: Instituto FNP Consultoria e Comercio, 2018.

ASBIA. **Inseminação Artificial.** 2019. Disponível em: <http://.www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>. Acesso em: 04 jan. 2019.

BARUSELLI P. S.; *et al*. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates**. Animal Reprodution Science Journal,** 2004.

BARUSELLI, P. S. IATF gera ganhos que superam R$ 3,0 bilhões nas cadeias de carne e de leite**. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP.** 2019. <https://drive.google.com/file/d/1QEcqS1Q5C45jVpJGDsLA6xXYDvwwa291/view>. Acesso em: 06 jul. 2019.

BEEFPOINT EDUCAÇÃO. **Eficiência reprodutiva: a importância da IATF para a produção de carne bovina no Brasil.** 2009. Disponível em:<https://www.beefpoint.com.br/eficiencia-reprodutiva-a-importancia-da-iatf-para-a-producao-de-carne-bovina-no-brasil-55996/>. Acesso em: 10 jan. 2019.

BENJAMIN, S.A.; LEE, A.C.; SAUNDERS, W.J. 1990**.** Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles. **Veterinary Pathology**. v. 36:423-436.

BÓ G. A.; *et al*. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology,** 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11775981>. Acesso em: 10 jan. 2019.

CAVALIERI J.; *et al*. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology**, 2006. Disponível em:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16278012>. Acesso em: 10 jan.2019.

CLIMENI B. S. O.; PICCININ A. A implantação de IATF juntamente da IA como mecanismos alternativos para o manejo reprodutivo de bovinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça.** n.10.jan. 2008**.** Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/site/e/medicina-veterinaria-10-edicao-janeiro-de-2008.html#tab821>. Acesso em: 04 ago.2019.

COLAZO M. G; MAPLETOFT R. J. **A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle.** 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4095965/>. Acesso em: 07 jan. 2019.

DALECK, C. R.. et al. 1998. Aspectos clínicos e cirúrgicos do tumor mamário canino. **Ciência Rural**. v. 28(1): 95-100.

DE NARDI, A. B. et al. 2002. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science.** 7(2):15-26.

DE NARDI, A. B.; FERREIRA, T. M. M. R.; ASSUNÇÃO, K. A. Neoplasias Mamárias. In:

DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos.** Rio de Janeiro: Roca, 2016. p. 726-756.

DEL CAMPO, C.H; GINTHER, O.J. Vascular anatomy of theuterusandovariesand unilateral luteolyticeffect of theuterus: angioarchitecture in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v.34, p.1377-1386, 1973b. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352005000600001&lng=en& tlng=en>. Acesso em: 04 ago.2019.

EGENVALL, A. et al. 2005. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 69, p. 109-127.

EVANS, B.R.; LEIGHTON, F.A. **A history of One Health.** 2014. Revista Science Technology. V. 33, p. 413-420.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012**. International Journal of Cancer.** 2015, v. 136, p. 359–386. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25220842/. Acesso em: 12 abr 2020.

FIGHERA, R. A. et al. 2008. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira** 28(4): 223-230.

FONSECA, C. S.; DALECK, C. R. 2000. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeito da ovário-histerectomia como terapia adjuvante. **Ciência Rural** 30(4): 731-735.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEREDO, J. R.; FREITAS, V. J. **Biotécnicas aplicadas** à **reprodução animal.** São Paulo:Varela,2001. Disponível em:<file:///C:/Users/SONY/Downloads/regulaccedilatildeo-farmacoloacute%20(1).pdf>. Acesso em: 04 agosto. 2019.

ITO, D. et al. Canine lymphoma as a comparative model for human non-Hodgkin lymphoma: recent progress and applications. 2014. **Vet Immunol Immunopathol** v. 159, p. 192-201.

KARAYANNOPOULOU, M., et al. 2005. Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. **Journal of Comparative Pathology** 133:246-252.

LORETTI, A. P. et al. Clinical, pathological and immunohistochemical study of feline mammary fibroepithelial hyperplasia following a single injection of depot medroxyprogesterone acetate. **Journal of Feline Medicine and Surgery,** v.7, p.43-52.2005.

MACDOUGALL, L. D. Mammary fibroadenomatous hyperplasia in a young cat attributed to treatment with megestrol acetate. In: **Fibroepithelial hyperplasia in an entire male cat: cytologic and histopathological features.** Tierärztliche Praxis Kleintier: Giessen, 2003. p.198–202.

MACIÀ, F. et al. **Factors affecting 5- and 10-year survival of women with breast cancer: an analysis based on a public general hospital in Barcelona**. Cancer Epidemiology. 2012, v. 36, p. 554–559. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22854422/. Acesso em: 12 abr 2020.

MADUREIRA, E. H.; *et al*. **Anestro** pós-parto em bovinos: a suplementação com óleos vegetais pode ser útil para encurta-lo? 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Raquel_Fernandes/publication/237364625_ANESTRO_POSRTO_EM_BOVINOS_A_SUPLEMENTACAO_COM_OLEOS_VEGETAIS_PODE_SER_UTIL_PARA_ENCURTA-LO/links/55db0a1308ae9d6594921f9a.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2019.

MARINHEIRO, M. F. **Enfermidades genéticas com mutações caracterizadas em bovinos.** 2011. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado) - Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/119830/marinheiro_mf_tcc_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 06 fev. 2019.

MARTINEZ M. F.; *et al*. **Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers.** Theriogenology, 2000.Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11101036>. Acesso em: 06 fev. 2019.

MARTINS, A.M.C.R.P.F.; GUERRA, J.L. 2002. Retrospective review and systematic study of mammary tumors in dogs and characteristics of the extracellular matrix. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.** 39(1):38-42.

MENEGHETTI M. *et al*. **Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for** *Bos indicus cows* **I:** basis for development of protocols.Theriogenology, 2009.Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19344942>. Acesso em:04 ago. 2019.

MERLO, D.F. et al. **Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor.** Registry of Genoa, Italy. Journal of veterinary internal medicine. 2008, v. 22, p. 976-84. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18564221/. Acesso em: 12 abr 2020.

MISDORP, W., et al. 1999. **Histological classification of the mammary tumors of the dog and the cat**, p.11-58. In: Ibid. (Eds), World Health Organization. International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. Second Series. v. 7. WHO: Geneva, Switzerland.

MISDORP, W. 2002. Tumors of the mammary gland, p.575-606. In: Meuten D.J. (Ed.), **Tumors in Domestic Animals.** 4. ed. Iowa State Press, Ames.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovina Nelore (***Bos taurus indicus***), Angus (***Bos taurus taurus***) e Nelore X Angus (***Bos taurus indicus* **X** *Bos tauru staurus***).** 2003. 98 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinaria, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

NATTERSON-HOROWITZ, B.; BOWERS, K. **Zoobiquity: what animals can teach us about health and the science of healing.** 2012. (Toronto: Doubleday Canada).

OLIVEIRA, L.O. et al. 2003. **Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina**. Acta Sci. Vet. 31(2):105-110.

OLIVEIRA, C. M. de. Afecções do Sistema Genital da Fêmea e Glândulas Mamárias. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P. de A.; KOGIKA, M. M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos.** Rio de Janeiro: Roca, 2015. p. 4669-4764.

OMS. **Air quality Guidelines - Global Update**. 2006.

PAOLONI, M; KHANNA, C. **Tradução de novos tratamentos contra o câncer de cães de estimação para humanos**. Nature Reviews Cancer. 2008, v. 8, p. 147-156. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18202698/. Acesso em: 12 abr 2020.

PINHEIRO, O. L. *et al*. **Estrous behavior and estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (Bosindicus) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 alfa or norgestomet and estradiol valerate.**Theriogenology, 1998. Disponivel em:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10732045>. Acesso em: 04 ago.2019.

PINHO, S.S. et al. **Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis.** Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine. 2012; v. 159, p. 165-172.

RADOSTITIS, O. M.; BLOOD, D.C. **Manual de controle da saúde e produção de animais.** São Paulo: Ed. Manole, 1986.

REIF, J.S. Animal sentinels for environmental and public health. 2011**. Public Health Rep.** n. 126, v. 1, p. 50-57.

SÁ FILHO M. F. et al. **A gonadotrofina coriônica eqüina e o hormônio liberador de gonadotropina aumentam a fertilidade em um protocolo de inseminação artificial cronometrado e baseado em norgestomet em vacas Nelore (Bosindicus) amamentadas.** 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20080296>. Acesso em: 23 maio 2019.

SALES J.N.S.et al.**Effects of Two Estradiol Esters (Benzoate and Cypionate) on the Induction of Synchronized Ovulations in BosIndicus Cows Submitted to a Time Artificial Insemination Protocol.** 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22503845>. Acesso em: 23 fev. 2019.

SCHALLER, O. **Nomenclatura anatômica veterinária ilustrada.** Ed. Acribia, S.A**.** Zaragoza,1992.

SCHIFFMAN, J.D.; BREEN, M. Comparative oncology: what dogs and other species can teach us about humans with cancer. 2015. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.** n. 6, v. 37, p. 37-39.

SENGER, P. L. **The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. J. Dairy Sci. 77, 1994**. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030294772179>. Acesso em: 20 fev. 2019.

SHAN NEO, J.P.; TAN, B.H. The use of animals as a surveillance tool for monitoring environmental health hazards, human health hazards and bioterrorism. 2017. **Vet Microbiology**. v. 203, p. 40-48.

SORENMO, K. U. 2003. **Canine mammary gland tumors. Vet. Clin. North Am., Small Anim.** Pract. 33:573-596.

_____________ et al. 2009. **Canine mammary gland tumors; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence.** Vet. Comp. Oncol. 7(3):162-172.

STRATMANN, N.; FAILING, K. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. **Veterinary Surgery**, v. 37, p. 82-86, 2008.

TORRES-JÚNIOR J. R. S.; et al. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial Torres-Júnior. Mitos e verdades em protocolos de IATF. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,** Belo Horizonte, v.40, n.4, p.129-141, out./dez. 2016. Disponível em: www.cbra.org.br. Acesso em: 19 jan.2019.

VARGO-GOGOLA, T.; ROSEN, J.M. **Modelling breast cancer: one size does not fit all**. Nature Reviews Cancer. 2007, v. 7, p. 659–672. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17721431/. Acesso em: 12 abr 2020.

**DENIS MEDINA GUEDES -** Engenheiro Agrícola e Ambiental formado pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), com mestrado em Engenharia Agrícola na área de mecanização agrícola pela mesma instituição. Possui experiência no desenvolvimento de equipamentos agrícolas, como secadores, fornalhas e transportadores, tendo atuado no mercado de trabalho como supervisor de projetos em uma indústria de Máquinas e equipamentos agrícolas. Também atuou como professor substituto na UFV Campus de Florestal e como professor efetivo e coordenador do curso de Tecnologia em Gestão Ambiental no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso campus Sorriso. Atualmente é professor efetivo na UFV campus Florestal, onde já coordenou os cursos de Agronomia e Técnico em Agropecuária. Atua principalmente nas áreas de topografia e geoprocessamento, agricultura de precisão e secagem e armazenagem de produtos agrícolas.

**LEONARDO FRANÇA DA SILVA -** Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal De Minas. Mestre em Agronomia pela Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista -UNESP. Atualmente, é pesquisador de Doutorado em Engenharia Agrícola (Construções Rurais e Ambiência) pela Universidade Federal de Viçosa e membro colaborador do Núcleo de Pesquisa em Ambiência e Engenharia de Sistemas Agroindustriais - AMBIAGRO- UFV. Além de ser aluno de pós graduação lato sensu em Engenharia de Segurança do Trabalho, Engenharia de Produção. Possui experiência nas áreas de Engenharia agrícola, com ênfase em Engenharia de Construções Rurais, Desenvolvimento rural, Sustentabilidade em sistemas de produção (Agrícola / Animal), Segurança do trabalho e Ergonomia.

**VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA** - Engenheiro Agrícola pela Universidade Federal de Lavras, especialista em Análise de Dados, mestre em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa. Atualmente é pesquisador de doutorado em Engenharia Agrícola na Universidade Estadual Paulista (UNESP), atuando na integração de novas tecnologias da informação no campo. Possuí experiência internacional no desenvolvimento de projetos científicos e atua diretamente no desenvolvimento de pesquisas na área de Construções Rurais e Ambiência e Uso de Inteligência Artificial na Agricultura.

ÍNDICE REMISSIVO

## A



## B



## C



## E



## F

## O



## P



## Q



## R



## S



## U



## V



## Z

# AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN

# CIENCIAS AGRÍCOLAS 4


www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Ano 2024

# AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN

# CIENCIAS AGRÍCOLAS 4


www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br


Ano 2024